

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat 3^{ème} cycle LMD

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : *Génétique Moléculaire*

N° d'ordre : 102 / D3C/ 2019
N° de série : 10/ BA/2019

Gènes de prédisposition au cancer prostatique

Présentée et soutenue par : MEDJANI Somia

Le 24/10 /2019

Jury d'évaluation :

Présidente du jury:

SATTA Dalila

Prof. Université des Frères Mentouri, Constantine 1

Directrice de thèse :

REZGOUNE-CHELLAT Djalila

MCA. Université des Frères Mentouri, Constantine 1

Examineurs :

CHAOUI Naouel

MCA. Université des Frères Mentouri, Constantine 1

KELLIL-BENDJMANA Katia

Prof. Université Abbes Laghrour, Khenchela

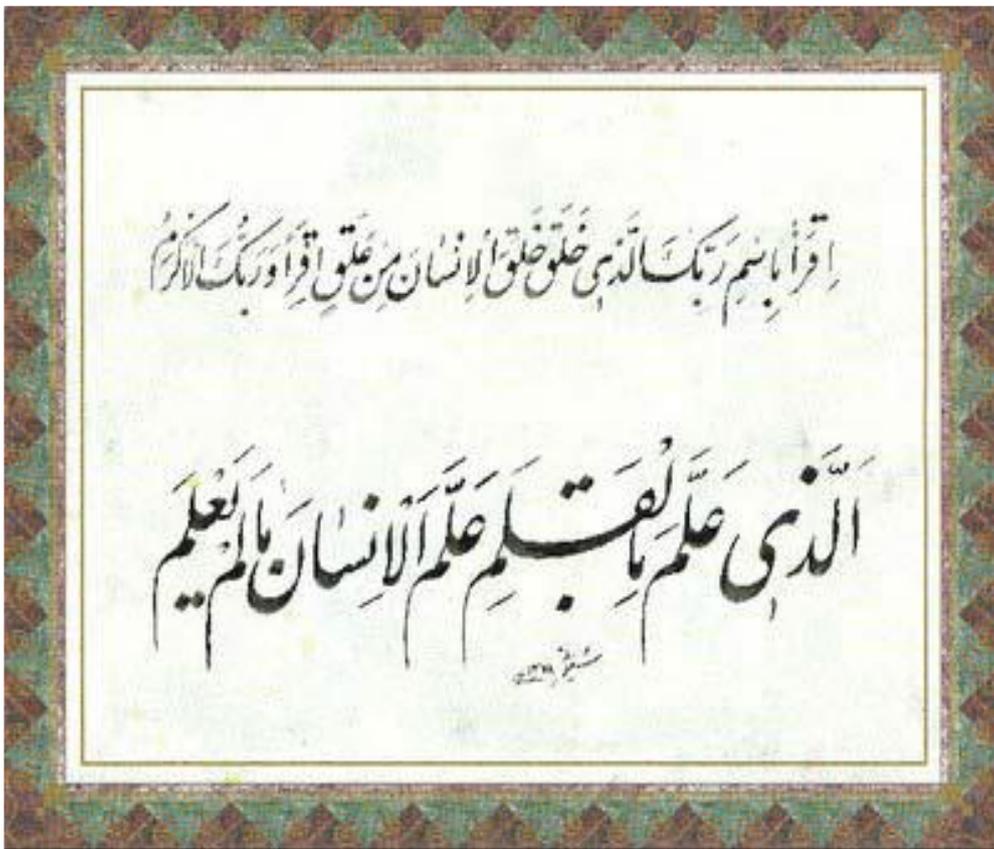
Membre invité :

DAHDOUH Abderezzak

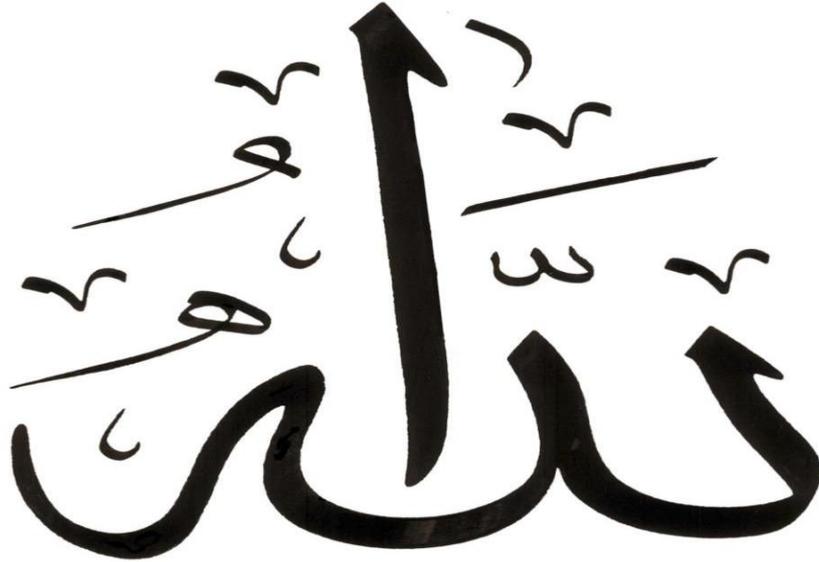
Prof. Établissement Hospitalier Spécialisé d'Uro-Néphrologie, Constantine

Année universitaire
2019 - 2020

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciements



AU TOUT PUISSANT ALLAH :

Merci de m'avoir donné la force et le courage pour accomplir ce travail. Que gloire et louanges vous soient consacrées pour l'éternité.

5 ans + 1 thésard \approx 150 pages + expérience professionnelle est évidemment une approximation très insuffisante. Hormis, le fait que les unités ne sont pas homogènes, ce travail a été rendu possible grâce à de nombreux appuis et conseils scientifiques, administratifs et amicaux.

En préambule à ce mémoire, je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui ont pris de leur temps pour m'aider à mener ce travail à son terme.

Ma reconnaissance chaleureuse à ma directrice de thèse **Dr REZGOUNE-CHELLAT. DJ**, Maître de conférences à l'université des frères Mentouri Constantine 1, pour son professionnalisme, ses précieux conseils scientifiques, sa compréhension, sa patience et son orientation judicieuse et sans qui cette thèse n'aurait jamais vu le jour. Vos qualités humaines me servent d'exemple. Votre dynamisme et votre rigueur ont suscité en moi une grande admiration et un profond respect.

Je tiens à remercier les membres du jury pour l'honneur qu'ils m'ont fait de bien vouloir juger cette thèse :

Mes vifs remerciements à notre responsable de la formation doctorale professeur **SATTA. D**, Merci pour votre participation à ce jury de thèse en tant que présidente. Merci d'avoir veillé à la réussite de notre formation doctorale. Cette thèse est le résultat d'un travail rendu possible par votre soutien permanent toutes ces années.

Nous tenions à vous exprimer professeur **KELLIL-BENDJEMANA. K** nos plus sincères remerciements pour avoir accepté de siéger auprès de ce noble jury. Votre présence nous honore.

Je suis heureuse que **Dr CHAOUI-KHEROUATOU. N** Maître de conférences A à l'Université des Frères Mentouri Constantine 1 ait accepté de faire partie de mon jury de thèse. Vous êtes une très bonne enseignante de notre faculté. Vous restez un exemple pour moi. Recevez l'expression de ma gratitude et de mon profond respect.

Nos remerciements vont aussi au professeur **KEZAI. T** et professeur **MEDJANI. F** pour m'avoir supporté durant cette période très difficile, pour leurs soutiens au quotidien, pour leurs nombreux conseils efficaces, merci de m'avoir accompagné, étape par étape, tout au long de cette thèse et de m'avoir rassuré quand j'en ai besoin, sans vous j'aurai lâcher prise.
Merci énormément.

Des remerciements du fond du cœur au professeur **DAHDOUH. A** pour m'avoir accueilli chaleureusement au niveau de son service et aussi aux médecins ainsi qu'aux techniciens des services d'urologie de la clinique rénale de Daksi qui m'ont facilité le recueil des données des malades.

J'exprime également mon extrême gratitude à l'ensemble du corps médical du centre hospitalo-universitaire de Constantine et plus précisément au professeur **ABADI. N** directeur du laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire de la faculté de médecine Université Salah Bounider Constantine 3. Je n'oublierai pas non plus la bonne humeur et l'aide de madame **DADCI. Y**

Je remercie chaleureusement mes frères **HIRECHE A, TOUATI S et CHIDEKH M** pour toute l'aide qu'ils m'ont apporté pour résoudre plusieurs problèmes statistiques.

Dédicaces

Ce modeste travail aura été un ascenseur émotionnel pour moi, c'est pour cela que je le dédie aux personnes qui ont su me comprendre, me rassurer, et m'aider tout au long de cette période :

Mes parents

Aucun mot ne serait être assez éloquent pour exprimer ce que vous méritez, pour votre confiance, votre respect de mes choix, et surtout pour vos efforts fournis pour mon éducation et mon bien être, que je ne pourrais jamais assez remercier.

Merci pour tous vos sacrifices, votre patience, ainsi que votre amour infini. J'espère vous rendre fier, chaque jour qui passe.

Ma sœur Nour El Houda

Sans toi je m'ennuierai, vous êtes la meilleure chose qui me soit arrivée. Merci infiniment pour ton soutien moral de m'avoir encouragé à toujours aller de l'avant même dans les moments difficiles, merci pour l'oxygène dans les périodes de stress, vous êtes ma vitalité.

À mes chères Mimi et Rima

Merci pour tes encouragements et d'avoir toujours cru en moi. Vous vous êtes impliquées autant que moi pour me soutenir dans tous les aspects de la vie.

À nos deux petites anges Maria et Assile

Vous remplissez notre vie de joie.

À Fateh, Nassima et mon oncle Allaoua

Quelques mots ne permettent d'exprimer ce que j'ai pour vous. Un grand merci

À mes grands-mères, tous mes oncles, tantes, madame Zidoune S et Housna

Qui m'ont soutenu de près ou de loin.

À tous mes cousins et cousines

Je suis très chanceuse de vous avoir dans ma vie.

Rania, Yasmina, Iness, Maroua et mes camarades de la promotion,

Nous avons partagé tant de choses ensemble, je vous en remercie.

Amira, Fatima, Sarah et Sabrina

Des années de stress, de joie, merci pour tous ces moments. Nous serons toujours
inséparables.

Si je garde un excellent souvenir de mes années d'étude, c'est aussi grâce à vous '**habibati**'

Avec une mention spéciale pour **Soufiane**, tu étais sans doute le meilleur cadeau que j'ai reçu
de ma vie. Merci, tu m'as toujours encouragé, stimulé et supporté et qui tu as subit mon stress
de fin de thèse.

A tous les autres membres de ma famille, et tous ceux que j'ai oublié de citer.

Table des matières

Remerciement et dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

Partie bibliographique

CHAPITRE I. Prostate

1. Anatomie de la prostate	3
1.1 Anatomie zonale de la prostate	4
2. Histologie de la prostate	5
2.1 Tissu glandulaire	6
2.2 Stroma prostatique	7
3. Physiologie de la prostate	7
4. Pathologies prostatiques	10
4.1 Prostatites	10
4.2 Hyperplasie Bénigne de la Prostate (HBP)	10
4.3 Cancer de la Prostate (CaP)	10

CHAPITRE II. Cancer de la prostate

1. Histoire naturelle du cancer de la prostate	11
2. Epidémiologie	11
3. Facteurs de risque	14
3.1 Age	14
3.2 Facteurs ethniques	14
3.3 Facteurs génétiques	15
3.4 Facteurs hormonaux	15
3.5 Facteurs nutritionnels.....	15
3.6 Obésité	16
3.7 Tabac	16
3.8 Alcool	16
3.9 Exposition aux polluants chimiques	17
4. Anatomopathologie du cancer de la prostate	17
4.1 Lésions précancéreuses	17

4.2 Extension	18
4.3 Facteurs d'agressivité tumorale	20
5. Symptômes du cancer de la prostate	20
5.1 Troubles mictionnels	20
5.2 Douleurs	21
5.3 Autres symptômes	21
6. Dépistage	21
6.1 Interrogatoire	21
6.2 Toucher rectal	22
6.3 Dosage du PSA total	22
6.4 Biopsie	22
6.5 Autres biomarqueurs de détection du cancer de la prostate	22
7. Diagnostic du cancer de la prostate	23
7.1 Echographie sus pubienne	23
7.2 Echographie endorectale de la prostate.....	23
7.3 Scanner abdomino-pelvien.....	24
7.4 Imagerie par Résonance Magnétique (IRM).....	24
7.5 Scintigraphie osseuse.....	24
8. Traitements du cancer de la prostate	24
8.1 Traitement des cancers prostatiques localisés	24
8.2 Traitement des cancers prostatiques métastatique	25
CHAPITRE III. Cancer de la prostate et génétique	
1. Formes héréditaires et familiales du cancer de la prostate	26
1.1 Gènes de prédisposition	27
1.2 Cancer de la prostate et autres cancers	28
2. Forme sporadique du cancer de la prostate	28
2.1 Altérations cytogénétiques et pertes d'hétérozygoties	28
3.2 Altérations épigénétiques	29
2.3 Altérations génétiques	30
3. Gènes de transformation des xénobiotiques	33
3.1 Cytochromes P450.....	34
3.1.1 Structures et mécanismes d'action des cytochromes P450.....	34
3.1.2 Classification.....	34

3.1.3 Gène <i>CYP1A1</i>	39
3.1.3.1 Polymorphismes du gène <i>CYP1A1</i>	35
3.1.3.1.1 Polymorphisme T3801C.....	36
3.2 Glutathion S-transférases.....	36
3.2.1 <i>GSTM1</i> : gène et enzyme	37
3.2.1.1 Structure du gène <i>GSTM1</i>	37
3.2.1.2 Polymorphismes du gène <i>GSTM1</i>	38
3.2.1.3 Fréquence du génotype <i>GSTM1</i> *0/*0.....	39
3.2.2 <i>GSTT1</i> : gène et enzyme.....	39
3.2.2.1 Structure du gène <i>GSTT1</i>	39
3.2.2.2 Polymorphismes du gène <i>GSTT1</i>	40
3.2.2.3 Fréquences du génotype <i>GSTT1</i> *0/*0.....	40
4. Facteurs d'angiogenèse.....	41
4.1 Généralités de l'angiogenèse.....	41
4.2 Mécanismes de l'angiogenèse.....	41
4.3 Phases de l'angiogenèse tumoral.....	42
4.3.1 Phase d'initiation.....	42
4.3.1 Phase d'activation.....	43
4.3.1 Phase de maturation.....	43
4.4 Gène VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) et ses récepteurs.....	43
4.4.1 Gène VEGF.....	43
4.4.2 Les récepteurs.....	44
4.4.3 Polymorphisme VEGF (-2578 C/A)	45

Partie pratique

I. Patients et méthodes

1. Type d'étude	47
2. Patients et témoins	47
2.1 Critères d'inclusion	47
2.2 Critères d'exclusion	47
3. Recueil et analyse des données.....	47
4. Méthodes	48
4.1 Prélèvements biologiques.....	48
4.2 Extraction de l'ADN génomique	48

4.3 Détermination de la pureté d'ADN	49
4.4 Génotypage des polymorphismes prospectés.....	49
4.4.1 Génotypage du polymorphisme T3801C du <i>CYP1A1</i>	49
4.4.2 Génotypage du <i>GSTM1</i> et <i>GSTT1</i>	54
4.4.3 Génotypage du polymorphisme -2578C/A du <i>VEGF</i>	55
4.5 Analyse statistique.....	57
4.5.1 Calcul de l'odds ratio.....	58
4.5.2 Intervalle de confiance.....	58
4.5.3 Choix de la <i>p-value</i>	58
4.5.4 Régression logistique.....	59
II. Résultats et discussion	
1. Etude descriptive des patients	60
1.1 Age.....	60
1.2 Statut tabagique	61
1.3 Antécédents familiaux	64
1.4 Profession	65
1.5 Critères cliniques et biologiques	66
1.5.1 Taux de PSA.....	67
1.5.2 Score de Gleason.....	68
1.5.3 Classification TNM.....	69
2. Etude moléculaire.....	70
2.1 Etude analytique cas-témoins des profils génotypiques et alléliques du polymorphisme T3801C du gène <i>CYP1A1</i>	70
2.2 Etude analytique cas-témoins des profils génotypiques des gènes <i>GSTM1</i> et <i>GSTT1</i>	74
2.3 Etude analytique cas-témoins des profils génotypiques et alléliques du polymorphisme -2578 du gène <i>VEGF</i>	80
Conclusion et perspectives	85
Références bibliographiques.....	87
Annexes	
Résumés	

Liste des abréviations

ADN :	Acide Désoxyribo Nucléique
AhR :	Récepteur Aryl hydrocarbure
ALK5 :	Activin Like Kinase 5
Ang :	Angiopoïétines
Ang1-Tie-2 :	Tyrosine kinase with immunoglobulin and EGF homology domains-2
APC :	Adenomatous Polyposis Coli
ARN:	Acide Ribo Nucléique
ARNT :	AhR Nuclear Translocation
BBP :	Bleu de Bromo Phénol
BCL-6 :	B-Cell Lymphoma-6
BRCA1 :	Breast Cancer 1
BRCA2 :	Breast Cancer 2
CaP :	Cancer de la Prostate
CAPB :	CANCer Prostate and Brain
CCL7 :	C-C motif Ligand 7
CCR3 :	CC-chemokine Receptor 3
CMR :	Cancérogènes Mutagènes Reprotoxiques
c-MYC :	cellular-MYelo-Cytomatosis
CpG :	Cytosine-phosphate–Guanine
CYP :	CYtochrome P450
DHT :	DiHydro Testostérone
DNase :	DésoxyriboNuclease
dTMP :	désoxy Thymidine Mono Phosphate
EDTA :	Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid
EHS :	Etablissement Hospitalier Spécialisé
EPHX1 :	EPoxide Hydrolase 1 microsomal Xenobiotic
ERG :	ETS-Related Gene Era : Estrogènes Receptor α
ETS :	Erythroblast Transformation-Specific
ETV1 :	ETS-Translocation Variant 1
ETV4 :	ETS-Translocation Variant 4

FGF :	Fibroblast growth factors
Flk1 :	Fetal Liver Kinase 1
Flt4 :	Fms-like tyrosine kinase 4
GOLPH2 :	GOLgi PHosphoprotein 2
GST :	Glutathion S-Transférase
GSTA :	Glutathione S-Transferase A
GSTK :	Glutathione S-Transferase Kappa
GSTM :	Glutathione S-Transferase Mu
GSTO :	Glutathione S-Transferase Omega
GSTP :	Glutathione S-Transferase Pi
GSTS :	Glutathione S-Transferase Sigma
GSTT :	Glutathione S-Transferase Theta
GSTZ :	Glutathione S-Transferase Zeta
HAPs :	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
HAS :	Haute Autorité de Santé
HBP :	Hyperplasie Bénigne de la Prostate
HIF1α :	Hypoxia Inductible Factor 1 α
hMLH :	human MutL Homolog 1
HPC1 :	Hereditary Prostate Cancer 1
HPC2 :	Hereditary Prostate Cancer 2
HPC20 :	Hereditary Prostate Cancer 20
HPCX :	Hereditary Prostate Cancer X
HSP90 :	Heat Shock Proteins 90kDa
IL6 :	InterLeukine 6
INK4a :	Inhibitor of CDK4 protein a
lnc ARN :	long non-coding RNA
MDR1 :	Multi-Drug Resistance 1
mi-ARN :	micro-ARN
MspI :	Moraxella species I
NRP :	Neuropilines
p14 :	protéine 14
PAP :	Phosphatase Acide Prostatique
PCA3 :	Prostate CAncer gene 3

PCaP :	Predisposing for Cancer of Prostate
PCBs :	PolyChloroBiphényles
PCR :	Polymerase Chain Reaction
PDGF :	Platelet Derived Growth Factors
PDGFR :	Platelet Derived Growth Factors Receptor
PG1 :	Prostate cancer susceptibility Gene 1
PIN :	Prostatic Intraepithelial Neoplasia
PIGF :	Placental Growth Factors
Protéinase K :	Protéinase Keratin
PSA :	Prostate Specific Antigen
RA :	Récepteur aux Androgènes
RARβ2 :	Retinoic Acid Receptor β 2
RASSF1A :	Ras ASSociation domain Family 1A
RFLP :	Restriction Fragment Length Polymorphism
RNASEL :	RiboNucleASE L
SDS :	Sodium Dodecyl Sulfate
SHBG :	Sex Hormone-Binding Globulin
SNP :	Single Nucleotide Polymorphism
SPINK1 :	Serine Protease INhibitor Kazal-type 1
TAPP :	Tissu Adipeux PériProstatique
TBE :	Tris Borate EDTA
TCDD :	TétraChloroDibenzo-p-Dioxin
TGFβ-1 :	Transforming Growth Factor β -1
TMPRSS2 :	TransMembrane Protease Serine 2
TNM :	Tumor Nodes Metastasis
TP53 :	Tumor Protein 53
TP53INP1 :	Tumor Protein 53-Induced Nuclear protein
TR :	Toucher Rectal
TSP-1/2 :	Thrombospondine-1/2
TSPY :	Testis Specific Protein Y-encoded
VEGF :	Vascular Endothelial Growth Factors
VPF :	Vascular Permeability Factor
WBV :	Whole-Body Vibration

Liste des figures

Figure 1 :	Schéma montrant la structure de la prostate et les vésicules séminales.....	4
Figure 2 :	Schéma montrant les différentes zones de la prostate.....	5
Figure 3 :	Schéma montrant l'anatomie zonale de la prostate selon McNeal en coupe sagittale (à gauche) et transversale (à droite).....	5
Figure 4 :	Schéma montrant les cellules de l'épithélium glandulaire prostatique.....	6
Figure 5 :	Schéma montrant les relations entre les différents types cellulaires de la prostate.....	7
Figure 6 :	Schéma montrant l'interaction stroma-épithélium dans la prostate.....	8
Figure 7 :	Estimation des taux d'incidence à l'échelle mondiale.....	12
Figure 8 :	Estimation des taux de mortalité à l'échelle mondiale	12
Figure 9 :	Taux standardisés d'incidence et de mortalité par cancer prostatique dans le monde	13
Figure 10 :	Processus des lésions PIN.....	18
Figure 11 :	Aspect histologique des différents grades du CaP selon la classification de Gleason.....	19
Figure 12 :	Schéma montrant les critères cliniques de reconnaissance des formes héréditaires du cancer de la prostate.....	27
Figure 13 :	Localisation chromosomique des gènes de prédisposition au cancer de prostate.....	28
Figure 14 :	Localisation schématique des mutations m1, m2, m3 et m4 sur le gène <i>CYP11A1</i>	36
Figure 15 :	Structure du gène <i>GSTM1</i>	38
Figure 16 :	Structure des isoformes du gène <i>GSTM1</i>	38
Figure 17 :	Mécanisme d'apparition de la délétion <i>GSTM1</i>	39
Figure 18 :	Position et structure du gène <i>GSTT1</i>	40
Figure 19 :	Schéma montrant les étapes de l'angiogenèse par intussusception.....	46
Figure 20 :	Schéma montrant les étapes principales de l'angiogenèse par Bourgeonnement.....	42

Figure 21 :	Schéma montrant la phase d'initiation de l'angiogenèse.....	42
Figure 22 :	Schéma montrant la phase d'activation de l'angiogenèse.....	43
Figure 23 :	Schéma montrant la phase de maturation de l'angiogenèse.....	43
Figure 24 :	Les différentes isoformes du <i>VEGF</i>	44
Figure 25 :	Les membres de la famille du VEGF (A-B-C-D et PlGF) et ses récepteurs VEGFR-1, 2,3 et NRP1,2).....	45
Figure 26 :	Structure du gène <i>VEGF</i> et la position de ses polymorphismes.....	45
Figure 27 :	Site de restriction de l'enzyme <i>MspI</i>	53
Figure 28 :	Profil électro-phorétique de la PCR du T3801C du <i>CYP1A1</i>	53
Figure 29 :	Profil électro-phorétique de la PCR du -2578C/A du <i>VEGF</i>	57
Figure 30 :	Site de restriction de l'enzyme <i>BstYI</i>	57
Figure 31 :	Histogramme de la moyenne d'âge des malades.....	60
Figure 32 :	Fréquences des fumeurs et non-fumeurs.....	61
Figure 33 :	Moyenne de consommation des cigarettes.....	62
Figure 34 :	Répartition des patients selon la profession.....	65
Figure 35 :	Répartition des patients selon le dosage du PSA.....	67
Figure 36 :	Répartition des patients selon le Score de Gleason.....	68
Figure 37 :	Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose (4%) des fragments après digestion par <i>MspI</i>	70
Figure 38 :	Fréquences génotypiques du T3801C du <i>CYP1A1</i> des patients et des témoins.....	72
Figure 39 :	Fréquences alléliques du T3801C du <i>CYP1A1</i> des patients et des témoins.....	72
Figure 40 :	Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose (3%) des fragments après Migration.....	75

Figure 41 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose (4%) des fragments après digestion par <i>Bst</i> <i>I</i>	81
Figure 42 : Fréquences génotypiques du -2578 C/A du <i>VEGF</i> des patients et des témoins.....	82
Figure 43 : Fréquences alléliques du - 2578 du <i>VEGF</i> des patients et des témoins.....	82

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Conditions de conservation de l'ADN.....	49
Tableau 2 :	Composants du milieu réactionnel pour la PCR du gène <i>CYP1A1</i>	51
Tableau 3 :	Séquences d'amorces sens (F) et anti sens (R) du gène <i>CYP1A1</i>	52
Tableau 4 :	Programmation des cycles de la PCR pour le gène <i>CYP1A1</i>	52
Tableau 5 :	Composition du milieu réactionnel de la PCR multiplexe.....	54
Tableau 6 :	Séquences d'amorces sens (F) et anti sens (R) utilisées des gènes <i>GSTM1</i> et <i>GSTT1</i>	55
Tableau 7 :	Programmation des cycles de la PCR multiplexe.....	55
Tableau 8 :	Composants du milieu réactionnel pour la PCR du gène <i>VEGF</i>	65
Tableau 9 :	Séquences d'amorces sens (F) et anti sens (R) pour le gène <i>VEGF</i>	56
Tableau 10 :	Programmation des cycles de la PCR du gène <i>VEGF</i>	56
Tableau 11 :	Tableau de contingence.....	58
Tableau 12 :	Association entre fumeurs et non-fumeurs.....	62
Tableau 13 :	Répartition des patients selon la présence d'antécédents familiaux.....	64
Tableau 14 :	Répartition des patients selon le taux de PSA total.....	67
Tableau 15 :	Répartition des malades selon le score de Gleason (SG).....	68
Tableau 16 :	Répartition des patients selon la classification TNM.....	69
Tableau 17 :	Répartition des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme T3801C du <i>CYP1A1</i>	71
Tableau 18 :	Corrélation entre le statut tabagique et les génotypes du polymorphisme <i>T3801C</i> du <i>CYP1A1</i> et le statut tabagique.....	74
Tableau 19 :	Distribution génotypique des polymorphismes des gènes <i>GSTM1</i> et <i>GSTT1</i> chez les patients et les témoins.....	75
Tableau 20 :	Corrélation entre le statut tabagique et les génotypes des <i>GSTM1</i> et <i>GSTT1</i> ..	78

Tableau 21 : Corrélation entre les génotypes <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> , <i>CYP1A1</i> et les différents Score de Gleason.....	79
Tableau 22 : Corrélation entre les génotypes <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> , <i>CYP1A1</i> et les stades cliniques.....	80
Tableau 23 : Répartition des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme - 2578 C/A du <i>VEGF</i> chez les patients et les témoins.....	81
Tableau 24 : Corrélation entre le génotype -2578A/C du <i>VEGF</i> et les différents Score de Gleason.....	83
Tableau 25 : Corrélation entre le génotype -2578A/C du <i>VEGF</i> et les différents stades cliniques.....	83

Introduction

Le terme « cancer » ou tumeur maligne regroupe une famille de maladies impliquant une prolifération anarchique de cellules transformées au sein d'un tissu de l'organisme. Ces cellules anormales possèdent un potentiel d'invasion et de métastase conduisant éventuellement à une propagation incontrôlée dans d'autres parties du corps. Cependant, toutes les tumeurs ne sont pas cancéreuses, c'est le cas des tumeurs bénignes. En effet, à l'inverse des tumeurs malignes (cancer), elles n'envahissent pas les autres tissus ou organes sains de l'organisme. Plus de 100 types de cancer existent (Cooper, 2000). En Algérie, au cours des 25 dernières années, une augmentation significative de l'incidence de nombreux types de cancers a été observée ; en 2014, 41250 nouveaux cas, dont 18710 hommes et 22540 femmes ont été enregistrés (Hamdi Cherif *et al.*, 2015).

Le cancer de la prostate constitue un problème de santé publique. Au niveau mondial, l'incidence du cancer de la prostate est au deuxième rang des cancers, après le cancer broncho-pulmonaire et il représente la sixième cause de décès par cancer chez l'homme (Globocan, 2018).

En Algérie. Le cancer de la prostate est le cancer masculin le plus fréquent (10% des cancers chez les hommes). Il représente le premier cancer du tractus génitourinaire (Ploussard, 2013 ; Hamdi Cherif *et al.*, 2015).

Il existe de nombreux cancers prostatiques, 95% sont des adénocarcinomes dus à une transformation maligne et lente de certains clones cellulaires normaux de la glande prostatique, qui se multiplient de façon anarchique, anormale et incontrôlée formant ainsi, des tumeurs malignes limitées à la prostate ou métastatiques atteignant les ganglions, les os et les autres organes (Egrot, 2010 ; Labouret, 2011 ; Rogez, 2014). Les seuls symptômes pouvant apparaître sont d'ordre urinaire avec des difficultés à la miction et notamment une pollakiurie. En plus de l'âge qui est le facteur de risque principal, plusieurs autres facteurs ethniques, géographiques et alimentaires sont actuellement identifiés favorisant la carcinogenèse au niveau de la glande prostatique. D'autres facteurs peuvent également contribuer à la cancérogenèse prostatique comme les facteurs environnementaux, professionnels et génétiques. Ces derniers peuvent être soit sporadique ou héréditaire, impliquant des gènes de prédisposition, des variants polymorphes principalement liés à des voies du cycle cellulaire, à la différenciation cellulaire, à l'apoptose, à l'adhérence cellulaire ou encore des gènes impliqués dans le système de détoxification de l'organisme, tels que les cytochromes P450 (*CYP1A1*, *1A2* et *1B1*), les gènes polymorphes de la famille des *GSTs* (*GSTM1*, *GSTT1*). Ainsi que des facteurs de l'angiogenèse

comme le *VEGF* (Vascular Endothelium Growth Factor) (Lattouf *et al.*, 2007 ; Acevedo *et al.*, 2014 ; El Ghazoui, 2016).

L'organisme humain dispose d'un complexe multienzymatique capable de lutter contre les agents cancérigènes et de neutraliser les métabolites toxiques générés par les xénobiotiques. Ce mécanisme est organisé en deux phases ; une première phase qui comprend les réactions d'oxydations (*CYP*), une deuxième phase composée essentiellement de réactions de conjugaisons (*GST*). Néanmoins, le métabolisme des xénobiotiques ne conduit pas toujours à la détoxification de ces composés. Dans certains cas, ces métabolites forment des adduits sur l'ADN et peuvent entraîner l'apparition d'éventuelles mutations ponctuelles et initier des processus de cancérogenèse. Nous nous limiterons dans ce travail à présenter trois éléments fondamentaux de la détoxification : le *CYP1A1*, *GSTM1* et *GSTT1*.

Lors de la croissance des tumeurs et le développement des métastases, la cellule tumorale acquies une capacité d'induire sa propre vascularisation par le processus d'angiogenèse. Ce développement du système vasculaire est un processus hautement régulé par plusieurs facteurs. Dans ce travail, nous nous sommes donc intéressés au facteur *VEGF* qui est une protéine clé de l'angiogenèse. Dans ce sens, le polymorphisme -2578C/A du *VEGF* et son implication dans le développement de la carcinogenèse prostatique ont été examinés.

Les objectifs assignés à cette étude sont :

- Effectuer une enquête descriptive dans le but d'identifier certains facteurs de risque impliqués dans l'apparition du cancer de la prostate.
- Rechercher de possible association du polymorphisme T3801C du *CYP1A1* avec la carcinogenèse prostatique.
- Prospector d'éventuelles implications des délétions des gènes *GSTM1* et *GSTT1* dans le développement du cancer de la prostate.
- Etudier d'éventuelle corrélation entre le polymorphisme -2578C/A du gène *VEGF* et le cancer de la prostate dans un échantillon de la population algérienne.

Partie

Bibliographique

CHAPITRE I

Prostate

La prostate faisant partie du système reproducteur masculin, est indispensable à la fertilité masculine (Heaney *et al.*, 2009). Elle englobe le carrefour des voies urinaires et génitales, d'où l'origine de son nom « *prostates* » en grec, qui signifie « *protecteur*, ou qui se tient devant ». Située sous la vessie, en avant du rectum, et enveloppe l'urètre. Elle a la taille d'une châtaigne (conique et aplatie), mesurant environ 3 à 5 cm de large et 3 à 4 cm de long. Très petite à la naissance, mais elle prend du volume lors de la puberté (Monge, 2008 ; Shen et Abate-Shen, 2010). Chez l'homme jeune, la prostate pèse 20 g lorsqu'elle est saine et son volume est d'environ 20 cm³ (Labouret, 2011). Elle subit une seconde période de croissance après l'âge de 60 ans (Flam, 2011).

La prostate est la glande la plus volumineuse (musculo-glandulaire) exocrine de l'appareil urogénital masculin (Lee *et al.*, 2011). Avec les vésicules séminales, elle joue un rôle essentiel dans la synthèse et l'émission d'un liquide laiteux et légèrement alcalin constituant le tiers environ du volume du liquide séminal et a un rôle dans l'activation des spermatozoïdes car les canaux déférents, qui proviennent des testicules amènent dans la prostate les spermatozoïdes qui sont mélangés au liquide séminal pour former le sperme passant dans l'urètre au moment de l'éjaculation (Marieb, 2008 ; Seisen *et al.*, 2012).

1. Anatomie de la prostate

La glande prostatique est située dans le petit bassin, juste au-dessous de la vessie entre la symphyse pubienne et le rectum. Elle contribue indirectement au cycle miction-contenance par sa composante musculaire lisse et ses rapports étroits avec l'urètre qui la traverse le col vésical, le sphincter urétral intrinsèque et les structures de maintien de la vessie (ligaments pubo-vésicaux et aponévrose pelvienne). La prostate est entourée également par des pédicules vasculo-nerveux participant à la réponse sexuelle masculine (Seguy, 1996 ; Seisen *et al.*, 2012) (Figure 1).

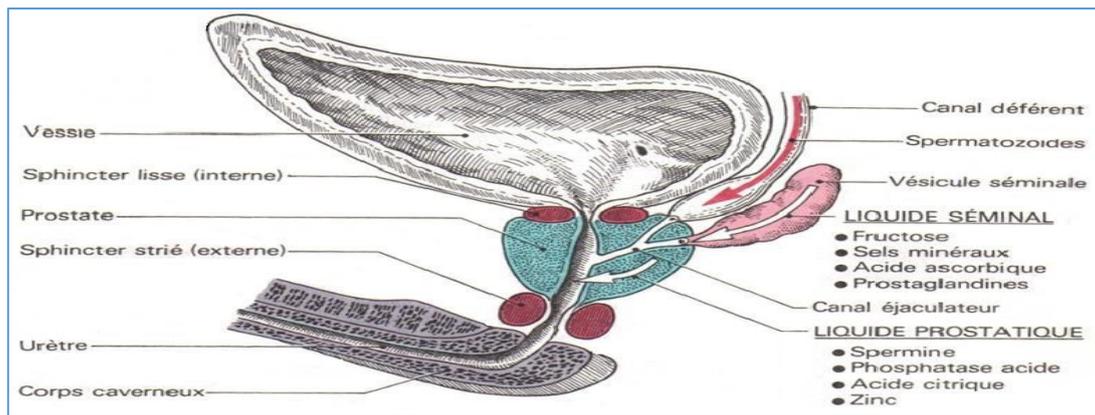


Figure 1 : Schéma montrant la structure de la prostate et les vésicules séminales (Seguy, 1996).

1.1 Anatomie zonale de la prostate

La prostate ne possède pas de lobe anatomiquement distinct. Selon la proportion en tissu glandulaire, l'organisation anatomique et histologique actuellement acceptée est celle décrite par McNeal en 1968. Selon cette organisation se divise en 4 zones (Figure 2 et 3) :

- **une zone périphérique** qui est la partie postérieure de la prostate et c'est la région qui est au contact du rectum. Représentant 70% de la masse glandulaire prostatique (où la plupart des cancers de la prostate se développent (70%), et elle est accessible aux biopsies transrectales), entourant la quasi-totalité de l'urètre distal. Cette zone est constituée de glandes entourées par un stroma peu dense formé de cellules musculaires largement espacées.
- **une zone centrale** constituant 25% de la glande prostatique, dérivée embryologiquement des canaux de Wolff. Elle est située en arrière de l'urètre proximal et englobe les canaux éjaculateurs et la portion intraprostatique des vésicules séminales. C'est la partie la plus éloignée du rectum, elle comporte des glandes de grande taille et irrégulières, appelées glandes principales. Ces dernières sont entourées d'un stroma très dense. La zone centrale est à l'origine de 10% des cancers de la prostate et la plupart des processus inflammatoires.
- **une zone fibro-musculaire antérieure** constituant la totalité de la face antérieure de la prostate, développée à partir du col vésical en proximal et du sphincter strié en distal. Cette zone est constituée de fibres musculaires lisses et est dépourvue de glandes prostatiques. Il a été suggéré que cette zone ne subit aucun processus pathologique.
- **une zone de transition** entourant l'urètre prostatique proximal est constituée de deux petits lobes regroupant 5% de la masse glandulaire prostatique. Dans cette zone, un ensemble de petites glandes ou de canaux dispersés le long de l'urètre proximal forment la zone des glandes péri-urétrales donnant naissance à 25% des cancers de la prostate (De Marzo *et al.*, 2007 ; Reveiller, 2008 ; Selman, 2011 ; Bastien *et al.*, 2012 ; Delongchamps, 2013).

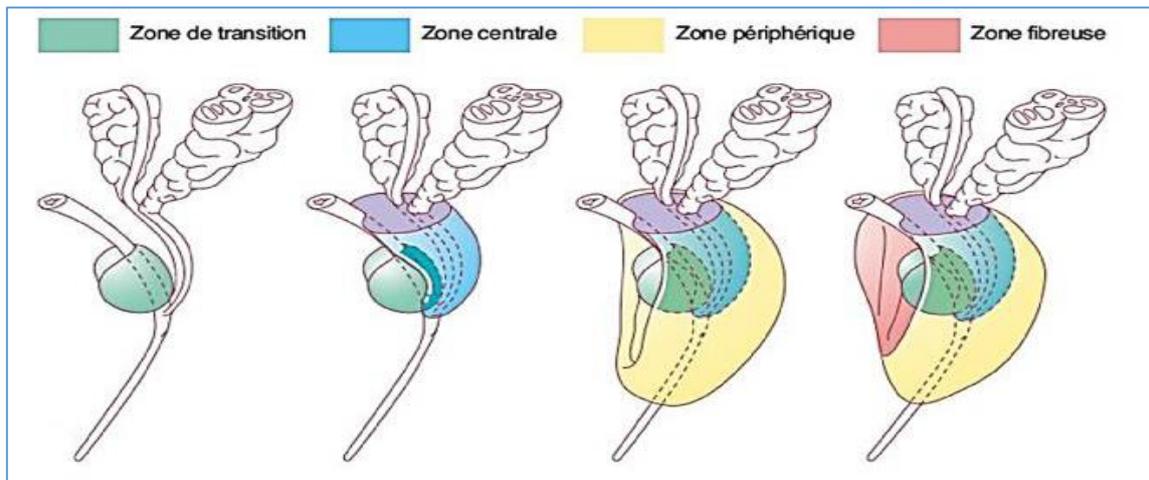


Figure 2 : Schéma montrant les différentes zones de la prostate (Marker *et al.*, 2003).

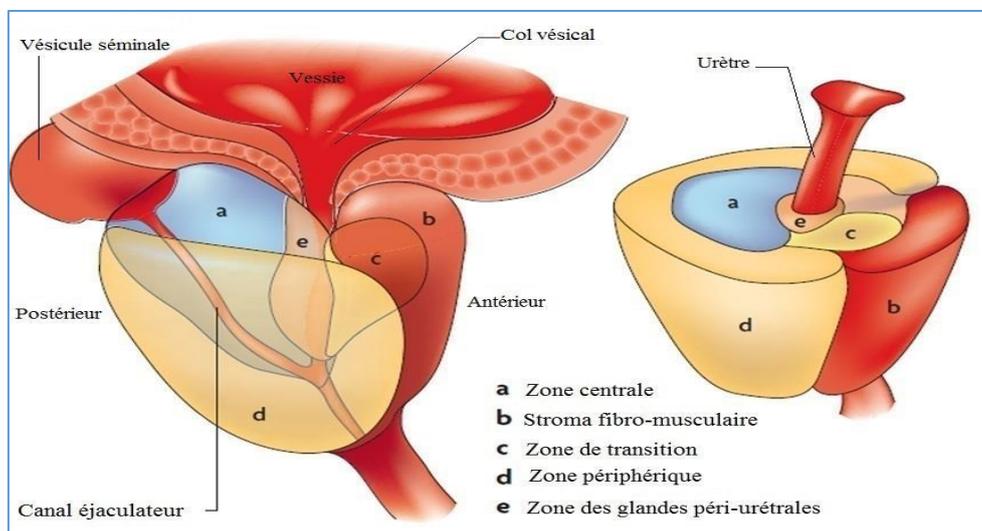


Figure 3 : Schéma montrant l'anatomie zonale de la prostate selon McNeal en coupe sagittale (à gauche) et transversale (à droite) (De Marzo *et al.*, 2007).

2. Histologie de la prostate

La fonction principale de la prostate est de produire le liquide séminal qui rentre dans la composition du sperme et qui joue un rôle dans la survie, la maturation et la mobilité des spermatozoïdes produits par les testicules. La prostate joue aussi un rôle dans le contrôle du jet d'urine. En effet, les fibres musculaires de la glande contrôlés par le système autonome peuvent ralentir ou arrêter le jet d'urine en se contractant et elles participent aussi à l'éjaculation.

La prostate de l'adulte est constituée de 30 à 50 glandes tubulo-alvéolaires déversant leurs sécrétions dans 15 à 30 canaux sécrétoires indépendants. La couche interne de la capsule prostatique est composée d'un muscle lisse tandis que sa couche externe est recouverte de collagène. Sur le plan histologique, la prostate est composée d'un tissu glandulaire (le compartiment épithélial) et d'un tissu fibro-musculaire (le compartiment stromal) séparés par

une lame basale (Cornu *et al.*, 2011 ; lee *et al.*, 2011; Delongchamps, 2013 ; Ammar, 2014 ; Gevaert *et al.*, 2014 ; Ittmann, 2018). Leurs aspects et leurs proportions relatives varient peu selon les différentes zones anatomiques.

2.1 Tissu glandulaire

Le compartiment épithélial de la prostate comprend plusieurs types cellulaires et est réparti en couches cellulaires (Figure 4) :

- **une couche basale**, renferme les cellules souches, qui représentent 2% de la couche, elle n'exprime pas des récepteur aux androgènes (RA) mais des récepteurs aux facteurs de croissance ainsi que des cellules intermédiaires prolifératrices impliquées dans la différenciation (elles sont sensibles à l'action des estrogènes).
- **une couche luminale**, aborde des cellules sécrétrices différenciées. Ces cellules ont un index de prolifération faible mais expriment les RA. A l'examen histologique, ces cellules ayant une forte expression de Phosphatase Acide Prostatique (PAP) et d'Antigène Spécifique de la Prostate (PSA), sérine protéase, dont la fonction physiologique est de liquéfier le liquide séminal.
- une couche renfermant des cellules intraglandulaires hybrides épithéliales neuroendocrines. Ces cellules font partie de l'épithélium sécrétoire et elles participent à la croissance et à la différenciation de l'épithélium, via un contrôle autocrine et paracrine. Elles sont indépendantes des androgènes et sont impliquées dans la carcinogenèse (Dayon, 2008 ; Lilja *et al.*, 2008 ; Banayan, 2010 ; Delongchamps, 2013 ; Camparo *et al.*, 2017 ; Ittmann, 2018).

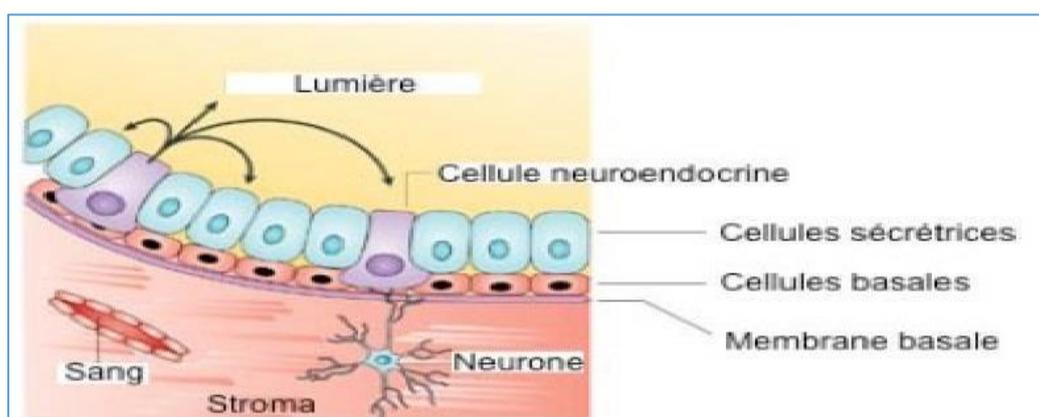


Figure 4 : Schéma montrant les cellules de l'épithélium glandulaire prostatique (Dayon, 2008).

2.2 Stroma prostatique

Le stroma est un tissu conjonctif qui produit de nombreux facteurs de croissance. Certains sont impliqués dans la différenciation prostatique, d'autres dans la prolifération ou dans l'inhibition de croissance cellulaire. Il est constitué de plusieurs types cellulaires. Les cellules androgéno-dépendantes sont : cellules musculaires lisses, cellules endothéliales et de cellules du système immunitaire (les macrophages), alors que les fibroblastes, n'exprimant pas de (RA), sont androgéno-indépendants. En outre, des cellules nerveuses et des fibres élastiques de la matrice extracellulaire (capsule prostatique) tel que le collagène (Jegla, 2007 ; Reveiller, 2008 ; Monge, 2009 ; Warnier, 2013 ; Ittmann, 2018).

Ce stroma a un rôle de vecteur pour les facteurs de croissance et la communication intercellulaire par les voies paracrines. Il intervient ainsi dans le maintien de l'épithélium glandulaire, dans la génération d'un microenvironnement nécessaire à la régulation de la croissance et à la réponse hormonale prostatique par expression de RA qui conduisent à la sécrétion des facteurs de croissance (Kurita, 2004 ; Monge, 2008 ; Warnier, 2013).

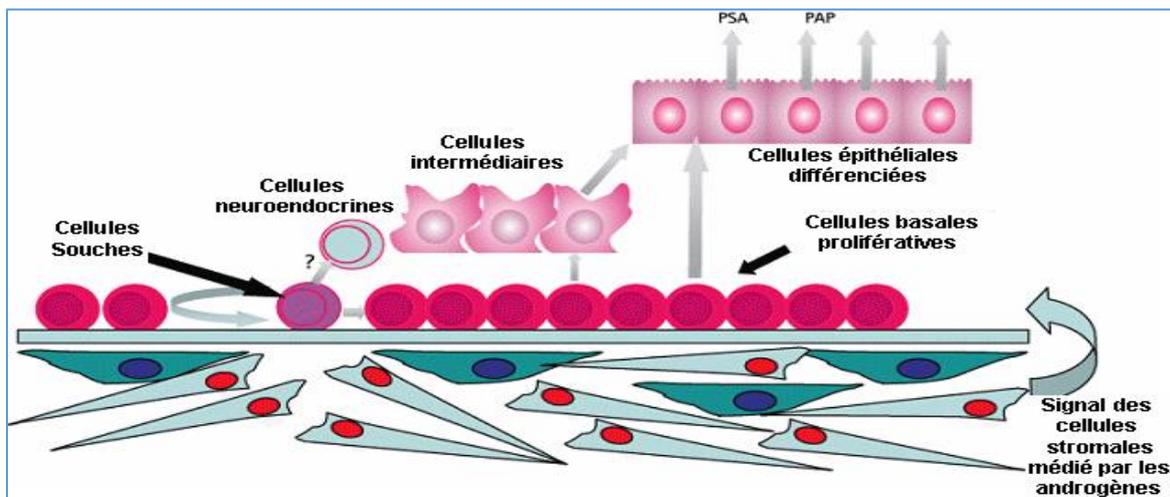


Figure 5 : Schéma montrant la relation entre les différents types cellulaires de la prostate (Monge, 2009).

3 Physiologie de la prostate

La prostate n'a pas de fonction hormonale propre, sa fonction principale est la sécrétion de 10-20% du liquide séminal intervenant principalement dans le transport et la conservation du sperme. Les sécrétions prostatiques contiennent des protéines et des électrolytes. Les principales protéines prostatiques sont la PAP et le PSA qui ont une signification diagnostique et liquéfient le sperme en hydrolysant les protéines sécrétées par les vésicules séminales et libère les spermatozoïdes du coagulum du sperme. Parmi les électrolytes sécrétés : le zinc joue

un rôle important, antibactérien et aussi permette de réduire l'acidité des sécrétions vaginales afin de ne détruisent pas les spermatozoïdes (Reveiller, 2008).

Les interactions entre les cellules épithéliales et stromales sont d'une importance capitale dans la régulation de la réponse hormonale, la croissance et la différenciation prostatique (Carnu *et al.*, 2011).

Le fonctionnement normal de la prostate et la croissance du tissu prostatique sont hormono-dépendants. Ils sont sous l'influence des androgènes, principalement la testostérone et dans une moindre mesure des œstrogènes. La testostérone régule la croissance prostatique ; cette hormone circule sous trois formes : 2% sous forme libre, seule forme utilisable directement par les tissus, 53-63% sont liés à la protéine de transport des stéroïdes sexuels appelée TeBG (testosterone binding-globulin) ou SHBG (sex hormone binding globulin) et 30 à 55% sous forme liée à l'albumine. La testostérone liée à la SHBG, à l'inverse de la fraction liée à l'albumine, se dissocie difficilement et n'est pas disponible pour l'utilisation tissulaire.

Une fois au contact de la prostate, la testostérone entre dans la cellule et sous le contrôle enzymatique de la 5-alpha-réductase de type II au niveau du cytosol, elle se transforme de façon irréversible en un métabolite actif appelé le DiHydroTestostérone (DHT).

Une partie du DHT se fixe sur le RA des cellules stromales et médie la sécrétion des facteurs de croissance. Ces derniers ayant des effets de stimulation positive ou inhibitrice sur les cellules épithéliales pour contrôler ainsi, l'équilibre entre prolifération, différenciation et apoptose au sein de la glande prostatique (Berry *et al.*, 2008 ; Dayon, 2008 ; Reveiller, 2008 ; Tan *et al.*, 2014). Au niveau des cellules épithéliales de la prostate, la liaison de la DHT au RA conduit à l'activation ou à la répression de gènes aboutissant à la sécrétion de PSA ou PAP par les cellules luminales (Carnu *et al.*, 2011 ; Tan *et al.*, 2014) (Figure 6).

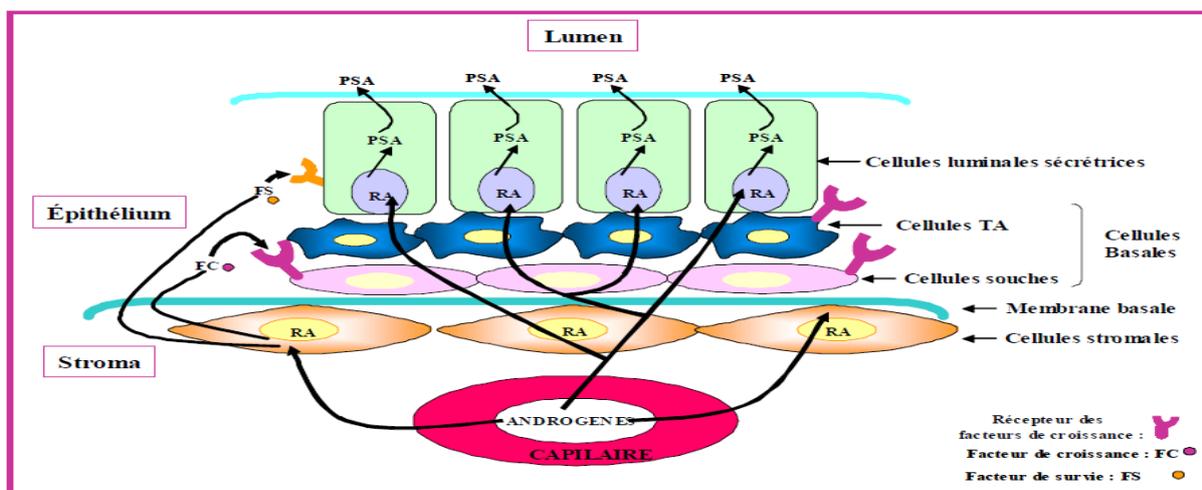


Figure 6 : Schéma montrant l'interaction stroma-épithélium dans la prostate (Jagla, 2007).

3.2 La régulation cellulaire de la croissance prostatique

Les différents systèmes impliqués dans la croissance prostatique font intervenir les éléments suivants :

- des facteurs endocrines qui sont des signaux sécrétés à distance (testicules, surrénales, hypophyse) arrivant à la prostate par la circulation sanguine (testostérone, LH (hormone lutéinisante), FSH (hormone folliculostimulante)).
- des signaux neuroendocrines provenant d'une stimulation neuronale comme l'acétyl- choline.
- des facteurs paracrines ou des facteurs de croissance qui stimulent ou inhibent la croissance et qui agissent à courte distance entre les cellules prostatiques voisines (EGF (Epidermal Growth Factor), IGF (Insulin-Like Growth Factor)).
- des facteurs autocrines ou des facteurs de croissance qui sont libérés par la cellule et reviennent sur cette même cellule pour réguler la croissance et la fonction (Martin *et al.*, 2008 ; Ohi *et al.*, 2014).

3.3 Les sécrétions prostatiques

Les principaux composants sécrétés par la prostate sont :

- **Antigène spécifique de la prostate (PSA) :** isolé pour la première fois dans le liquide séminal par Hara en 1971. Il s'agit d'une glycoprotéine de poids moléculaire de 33-34 kD et de 240 acides aminés, exclusivement produite chez l'homme dans les cellules épithéliales prostatiques, agissant comme une sérine protéase. Il est également présent dans le sang et est le marqueur le plus utilisé pour le dépistage et le suivi du cancer de la prostate (CaP). Sa concentration dans le fluide prostatique est d'environ 3g/l. Sa demi-vie est de 2,2 jours (Banayan, 2010).
- **Phosphatase acide prostatique (PAP) :** s'agit d'une glycoprotéine non spécifique de la prostate, de rôle physiologique mal connu, elle pourrait intervenir dans la capacitation des spermatozoïdes et la liquéfaction du sperme.
- **Human kallikrein 2 (Hk2) :** Cette kallikréine possède une homologie importante avec le PSA, et est présente à un taux d'environ 1% de celui du PSA dans le sang, le sperme et le tissu prostatique. La fonction de la Hk2 semble être de convertir le pro PSA en sa forme active.
- **Prostate-specific-membrane-antigen (PSMA) :** Cette molécule est exprimée par les cellules épithéliales, enchâssée dans la membrane cellulaire. Son taux étant plus élevé au sein des tissus prostatiques tumoraux (Elgamal *et al.*, 2000).
- la fibrinolyse, l'amylase, l'albumine, la spermine et les électrolytes.

4 Pathologies prostatiques

La prostate peut être le siège de trois différentes pathologies :

4.2 Prostatites

Il est difficile d'établir une définition globale de la prostatite car chaque syndrome de prostatite présente des caractéristiques distinctes. Les prostatites sont des inflammations de la glande prostatique. Les agents étiologiques responsables de la prostatite sont essentiellement des agents infectieux (bactéries ou champignons). Le terme prostatite regroupe deux affections différentes, la prostatite aiguë et la prostatite chronique en fonction de la durée de l'affection et de la gravité des symptômes (Pluta, 2012).

- **les prostatites aiguës** : ce sont des infections bactériennes d'origine sexuelle causées par *Chlamydia trachomatis* ou *Escherichia coli* (80% des cas), ou consécutives à des examens médicaux (biopsie de la prostate, sondage urinaire, etc.).

- **les prostatites chroniques** : ce sont les plus fréquentes formes de prostatites. La prostatite chronique est un état clinique dans lequel une infection aiguë dure plus de 3 mois. Elles sont la conséquence d'infections urinaires répétées pouvant être d'origine bactérienne, d'origine inflammatoire (non bactérienne) ou non inflammatoire (prostatodynies). Une malformation de l'appareil urinaire peut également être à l'origine de prostatites récidivantes (Daniel *et al.*, 2007 ; Viennois, 2011 ; Fred *et al.*, 2015 ; Rees et Doble, 2015).

4.3 Hyperplasie bénigne de la prostate (HBP)

L'hyperplasie bénigne de la prostate est connue aussi sous le nom d'adénome prostatique. C'est une maladie bénigne due à une augmentation du volume de la zone et des glandes péri-urétrales d'une façon microscopique puis macroscopique.

Microscopiquement, l'HBP est due à une augmentation de la taille des cellules épithéliales prostatiques (hypertrophie), ainsi que de leur nombre (hyperplasie). Sur le plan macroscopique, l'HBP se caractérise par une prolifération du stroma fibreux et des cellules épithéliales. Cette prolifération est responsable d'une augmentation de la taille globale de la prostate (l'adénome). Son incidence augmente avec l'âge (de 19–30% autour de 60 ans, atteint 70% pour les hommes de 70 ans et plus). Cet adénome ne s'agit pas d'un cancer mais d'un ensemble des changements histologiques et anatomiques pouvant être à l'origine de troubles urinaires et sexuels en exerçant une pression sur l'urètre et peut gêner la miction (Wilson, 2011 ; Harik et O'Toole, 2012 ; Rogez, 2014 ; Langan, 2019).

4.4 Cancer de la prostate (CaP)

Le cancer de la prostate sera traité le chapitre suivant.

CHAPITRE II

Cancer de la prostate

1. Histoire naturelle du cancer de la prostate

Le cancer de la prostate (CaP) est le plus souvent un adénocarcinome qui représente 95% des cancers prostatiques, c'est-à-dire qui se développent à partir de l'épithélium glandulaire. Le développement de la tumeur dû à une transformation maligne et lente (10-15 années) originaire d'une prolifération incontrôlée et anarchique de ces cellules sécrétrices (Egrot, 2010 ; Labouret, 2011 ; Loubeau, 2012).

Sous l'action de facteurs tumorigènes (génétiques, environnementaux...), les cellules normales de la prostate subissent des altérations génétiques successives touchant essentiellement les proto-oncogènes, les suppresseurs de tumeurs, les gènes de réparation d'ADN, les gènes régulateurs du cycle cellulaire, les gènes de l'apoptose et ceux codant pour les protéines d'adhésion, les facteurs angiogéniques, les métalloprotéases impliqués dans l'invasion tumorale et les métastases. Ces modifications génétiques se traduisent par la dysrégulation du cycle cellulaire et l'immortalisation cellulaire qui sont aussi responsables de lésions précancéreuses, aboutissent à un carcinome *in situ* (intracapsulaire) et se développe au sein de la prostate, avant de franchir la capsule prostatique et d'envahir les organes avoisinants. A ce stade, le cancer est microscopique. Aucun examen ne peut mettre en évidence ce foyer cancéreux car il est impalpable au Toucher Rectal (TR) et le taux de PSA sanguin n'est pas significatif (Egrot, 2010 ; Labouret, 2011 ; Ploussard, 2011 ; Rogez, 2014 ; El Ghazoui, 2016).

Les cellules prostatiques malignes vont proliférer pour atteindre l'urètre, le col vésical et le rectum, alors une masse tumorale ou adénocarcinome se forme et la tumeur devient plus agressive et palpable au TR avec une augmentation du taux de PSA total. En outre, les cellules prostatiques cancéreuses peuvent migrer, envahissant d'abord la prostate puis la capsule prostatique avant de disséminer par voie sanguine ou lymphatique, entraînant essentiellement des métastases ganglionnaires. Ces cellules cancéreuses sont très ostéophiles et atteignent même d'autres organes (le foie, les poumons, le cerveau et la peau), il s'agit du CaP non localisé (extra-capsulaire) (Egrot, 2010 ; Labouret, 2011 ; Rogez, 2014 ; Ahlimine, 2017).

2. Epidémiologie

2.1 Épidémiologie mondiale du cancer de la prostate

Le cancer figure parmi les principales causes de morbidité et de mortalité dans le monde ; en 2018, 18,1 millions de nouveaux cas ont été enregistrés avec 9,6 millions de décès (Bray *et al.*, 2018).

Le premier cas du CaP a été décrit chez un homme de 59 ans en 1853 par Adams (Adams, 1855).

L'incidence du CaP varie selon l'origine ethno-géographique des patients (Cussenot *et al.*, 2004 ; Malik *et al.*, 2018). Elle a augmenté au cours des deux dernières décennies, fortement dans les pays industrialisés, c'est le cancer dont l'incidence est la plus augmentée (Margel, 2011). En 2002, le CaP est la deuxième cause de décès par cancer chez l'homme de plus de 50 ans derrière les cancers broncho-pulmonaires avec plus de 670000 nouveaux cas recensés.

En 2012, environ 1,1 million cas ont été diagnostiqués dans le monde avec un nombre de décès estimé à 307 000 (Ferlay *et al.*, 2015 ; Théry *et al.*, 2016).

En 2018, le CaP est classé au deuxième rang des cancers les plus fréquents et la sixième cause de décès par cancer chez l'homme dans le monde entier dont le nombre de nouveaux cas diagnostiqués a augmenté et atteint 1,3 million d'hommes avec 359,000 décès (avec une incidence de 29,3 / 100 000 habitants et le taux de mortalité est estimé à 7,6 / 100 000 habitants) (Figure 7 et 8).

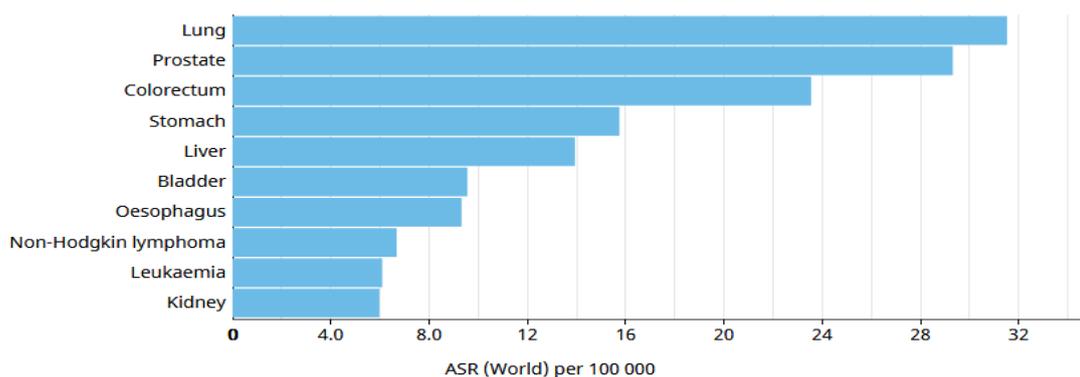


Figure 7 : Estimation des taux d'incidence à l'échelle mondiale en 2018 (Globocan, 2018).

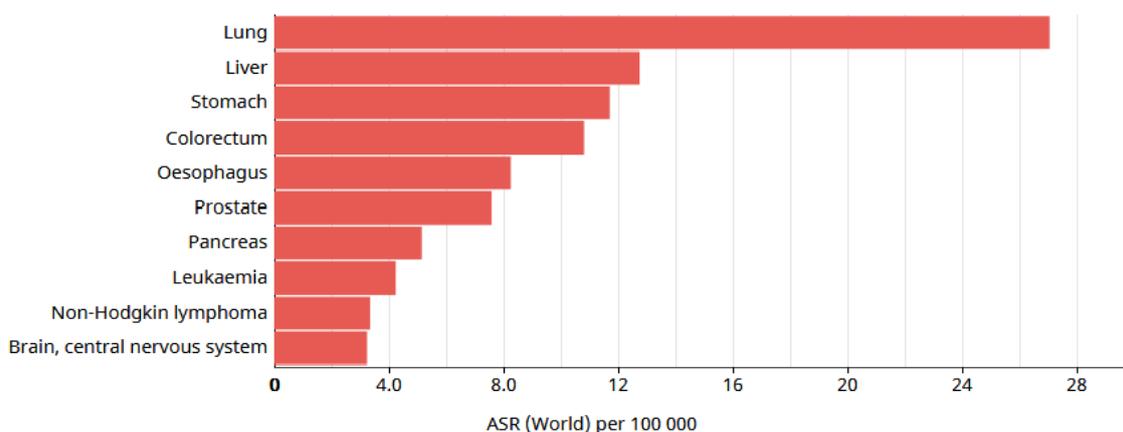


Figure 8 : Estimation des taux de mortalité à l'échelle mondiale en 2018 (Globocan, 2018).

A l'échelle mondiale, les taux d'incidences les plus élevés ont été observés surtout, en Guadeloupe, Australie et en Nouvelle-Zélande, l'Europe septentrionale et occidentale et l'Amérique du Nord. En revanche, l'incidence est plus basse aux pays de l'Asie centrale où elle est inférieure à 5 cas/100 000 habitants.

Par contre le taux de mortalité ne suit pas ceux des incidences, les taux les plus élevés sont observés dans les populations majoritairement noires, en Caraïbes (à la Barbade), en Afrique subsaharienne (Figure 9) (Bray *et al.*, 2018).

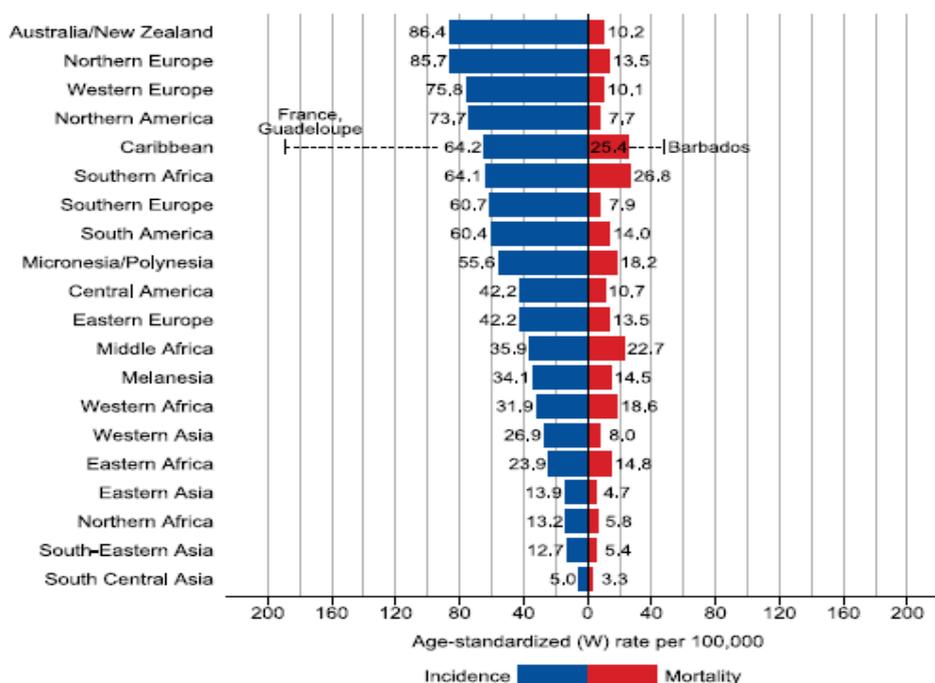


Figure 9 : Taux standardisés d'incidence et de mortalité par cancer prostatique dans le monde (2018). ASR (W) : age-standardised rate (World) (Bray *et al.*, 2018).

Aux États-Unis, c'est le 1^{er} cancer avec une incidence moyenne de 116 cas/100 000 habitants dans la population noire (les afro-américains) alors que pour la population blanche (aux américains caucasiens) elle n'est que de 71 cas/100 000 habitants. Dans les pays d'Amérique du Sud, l'incidence moyenne est de 25-50 / 100 000 habitants (Hutiev *et al.*, 2015).

L'American Cancer Society estime qu'en 2019, il y aura environ 174 650 hommes atteints d'un cancer de la prostate nouvellement diagnostiqués, soit une augmentation de 6% par rapport à 2018. Le CaP est la deuxième cause de décès par cancer chez les hommes aux États-Unis, 31 620 sont décédés par ce cancer en 2019, soit une augmentation de 7% par rapport à 2018 (toutes les 17 minutes, un homme aux États-Unis meurt à cause de cancer de la prostate, ce qui représente environ 86 décès par jour) (American Cancer Society, 2019).

Du fait de son incidence croissante avec l'âge et le vieillissement de la population, le cancer de la prostate va prendre, dans un avenir proche, une place prépondérante.

2.2 En Algérie

D'après le registre national du cancer en 2019, près de 42 000 nouveaux cas de cancer sont enregistrés chaque année, soit 103,3 / 100 000 habitants.

Le CaP est de plus en plus fréquent depuis le début des années 2000. Dans notre pays le registre des cancers place le cancer de prostate au 4^{ème} rang (après le cancer broncho-pulmonaire, le cancer colorectal et le cancer de la vessie). En 2005, il a représenté 9,5% de l'ensemble des cancers incidents chez l'homme, avec une incidence moyenne de 7,2 / 100 000 hommes, qui n'était que de 2,1 / 100 000 en 1986 et passe à 8,2 / 100,000 habitants en 2010. En 2014, le CaP a représenté 10% des cancers chez les hommes, 1645 nouveaux cas ont été enregistrés (80% des cas enregistrés sont à un stade avancé) avec une incidence moyenne de 10,8/ 100 000, ceci reste inférieur à celui des pays du Maghreb (Maroc : 2332 cas) (Hamdi Cherif *et al.*, 2014 ; Hamdi Cherif *et al.*, 2015 ; Razouki, 2015). D'après les données de globocan 2018 ce cancer occupe la 3^{ème} place avec 2 578 nouveaux cas chez l'homme.

3. Facteurs de risque

Les facteurs de risque sont principalement liés à l'âge, aux origines ethniques, aux habitudes alimentaires et à des prédispositions génétiques.

3.1 Âge

Le CaP est associé au vieillissement, donc c'est le plus grand facteur de risque. En effet, plus les sujets sont âgés, plus les probabilités d'être diagnostiqué avec un cancer de la prostate sont élevées. Son incidence augmente régulièrement avec l'âge (Malik *et al.*, 2018). Il est exceptionnel avant l'âge de 50 ans (< 0,1% des cas) et est significatif au-delà, à l'exception des hommes de race noire (notamment les afro-américains) ayant une prévalence déjà significative à l'âge de 40 ans. La prévalence du CaP est supérieure à 70% chez l'homme de plus de 65 ans et de 80% pour les plus de 80 ans (Lattouf et Fred, 2007 ; Ploussard, 2011 ; Pernar *et al.*, 2018).

3.2 Facteurs ethniques

L'origine ethnique semble donc jouer un rôle important dans l'apparition du CaP. Le taux d'incidence du cancer de la prostate dans la population dite Afro-américaine est 1,6 fois plus élevée que dans les autres populations (178,3 et 105,7 pour 100 000 personnes dans la population afro-américaine et caucasienne, respectivement) (HAS, 2012 ; Noone *et al.*, 2018).

3.3 Facteurs génétiques

Le CaP touche certaines familles en particulier, ce qui laisse penser qu'il existe un facteur héréditaire ou génétique. L'étude des antécédents familiaux chez les personnes atteintes du cancer de la prostate montre que ce dernier peut avoir un caractère héréditaire.

Un homme dont le père ou le frère souffre d'un CaP a deux fois plus de risque d'en souffrir à son tour. Le risque est encore plus élevé pour les hommes ayant plusieurs personnes atteintes dans leurs familles, notamment si leurs proches étaient jeunes au moment où le cancer a été diagnostiqué. Les scientifiques ont identifié plusieurs gènes héréditaires dont l'altération semble augmenter le risque de développer un CaP. Certains gènes sont même impliqués dans plusieurs cancers (Cussenot et Cancel-Tassin, 2004 ; Jagla, 2007 ; Guideline, 2008 ; Stoti, 2008).

Le plus souvent, aucun facteur génétique ne peut être mis en évidence. Dans ce cas on parle de forme sporadique qui est la forme la plus fréquente du CaP (Bataillard *et al.* ; 2005 ; Cornu *et al.*, 2011).

3.4 Facteurs hormonaux

Le CaP est hormono-dépendant dans 80% des cas. Le DHT issue de la transformation intraprostatique de la testostérone libre dans le sang stimule la croissance des cellules prostatiques et donc d'un éventuel adénocarcinome. Un taux élevé de testostérone, d'œstrogènes circulants, de 5- α -réductase de type II, une surexpression ou des mutations des gènes des facteurs de croissance et de survie, exposent l'individu à un risque du CaP très élevé (De Gouvello *et al.*, 2009, Ploussard, 2011 ; Warnier, 2013).

3.5 Facteurs nutritionnels

Il semblerait que l'alimentation influence l'incidence du CaP. Un régime alimentaire hautement calorique, riche en protéines (viandes rouges), graisses saturées d'origine animale et de produits laitiers avec des quantités importantes peut favoriser la survenue du CaP après leur conversion en androgènes (Campi *et al.*, 2018). Une faible consommation ou l'absence de consommation de fruits et de légumes augmente également le risque de cancer de la prostate. Il est aussi admis que la consommation de certains végétaux (riches en anti-oxydants tels que les caroténoïdes, les lycopènes, la vitamine E et le zinc), le thé vert et les aliments à base de soja ont un effet protecteur (Ploussard, 2011 ; Loubeau, 2012 ; Sierra *et al.*, 2016).

3.6 Obésité

L'obésité n'augmente pas le risque de cancer de la prostate mais elle est généralement associée à des formes de cancer de la prostate plus agressives avec un développement plus rapide et des conséquences plus graves sur l'organisme. Ainsi, les effets divergents de l'obésité sur le cancer de la prostate sont multifactoriels : d'une part la difficulté lors de la détection de biais (moins de biopsies effectuées, la prostate serait plus large ce qui réduirait les chances de détecter un cancer de la prostate par biopsie et le toucher rectal plus difficile à effectuer). D'autre part, ces biais retarderaient le diagnostic et le dépistage des cancers de la prostate plus avancés au moment du diagnostic.

Chez les obèses, le risque d'avoir un CaP est très élevé, avec une mortalité accrue de l'ordre de 20-34%, ceci est dû à l'association de l'obésité aux modifications sériques des taux d'androgènes modulant le métabolisme prostatique. Le Tissu Adipeux Péri Prostatique (TAPP) peut être infiltré au cours de l'évolution du CaP par les cellules tumorales, favorisant ainsi, la progression du CaP avec métastases (Larré *et al.*, 2007 ; Laurent *et al.*, 2016 ; Sierra *et al.*, 2016 ; Pernar *et al.*, 2018).

3.7 Tabac

Le tabac augmente le risque de développer un CaP de l'ordre de 30%. Le risque de décès par métastases de CaP est plus élevé lorsque la consommation du tabac s'étale sur une période de plus de dix ans (Wisard et Leisinger, 2006 ; Riekena *et al.*, 2015 ; Pernar *et al.*, 2018).

3.8 Alcool

La consommation d'alcool est considérée comme un facteur de risque d'apparition de nombreux cancers. C'est un agent classé comme cancérigène pour l'homme par le centre international de recherche sur le cancer (CIRC), sa transformation dans l'organisme notamment en acétaldéhyde favorise le développement des cancers. Dans le rapport de 2007 publié par le World Cancer Research Fund International (WCRF) et l'American Institute for Cancer Research (AICR), l'association entre la consommation de boissons alcoolisées et le risque de cancer de prostate n'est pas significative. De même, dans les rapports de SLR (Systematic Literature Review), CUP (Continuous Update Project) et la méta-analyse de Rota et ses collaborateurs en 2012 aucune association entre la consommation d'alcool globale et le cancer de la prostate n'a été observée.

3.9 Exposition aux polluants chimiques

Le cancer de la prostate répond au concept de maladie multifactorielle survenant chez des sujets génétiquement prédisposés, sous l'influence de facteurs environnementaux. Les pesticides sont incriminés dans la survenue du CaP, les dérivés biphenyls polychlorés (PCB), certains métaux lourds comme le cadmium ainsi que, d'une manière plus générale les substances ayant des propriétés hormonales ont été fréquemment évoquées (Multigner *et al.*, 2008).

Les agriculteurs et les populations rurales ont un risque de développer un CaP de 12% alors que les ouvriers d'usines de production de pesticides ont un risque de 28% plus élevé par rapport à la population générale. Cela est dû à leur exposition aux familles chimiques de pesticides appartenant aux herbicides de type chlorophenoxy ou contaminés avec des dioxines reconnus comme des mutagènes initiateurs de la cancérogenèse (Ndong *et al.*, 2009).

4. Anatomopathologie du cancer de la prostate

4.1 Lésions précancéreuses

Les carcinomes prostatiques sont des adénocarcinomes acineux qui se développent à partir des cellules luminales sécrétantes des glandes prostatiques. L'adénocarcinome prostatique peut prendre différentes formes, en fonction de son site d'origine dans la prostate et de sa différenciation histologique. Les cancers de la zone périphérique naissent souvent de lésions multifocales prédominantes cette zone avec une prévalence qui augmente avec l'âge (20% avant 50 ans et 50 à 80% après 80 ans). Il s'agit de lésions pré-néoplasiques intracanalaires ou Néoplasie Intraépithéliale Prostatique (PIN) considérées comme étant un précurseur des lésions cancéreuses et comme étant un marqueur signalant la vulnérabilité de l'épithélium à développer un processus néoplasique (Putzi et De Marzo *et al.*, 2001 ; Pignon, 2010 ; Srirangam *et al.*, 2017).

Des PIN de bas grade (LGPIN) et des PIN de haut grade (HGPIN) peuvent être distinguées, et seules les lésions de PIN de haut grade sont reconnues comme lésions précancéreuses, ayant un risque potentiel de transformation en adénocarcinome par prolifération des cellules épithéliales luminales présentes sur une seule assise cellulaire au niveau des glandes et des tubules de la prostate. Ces PIN sont à l'origine des anomalies cyto-nucléaires présentant ainsi des noyaux de taille importante et un nucléole souvent proéminent (comme dans les cellules cancéreuses) (Montironi *et al.*, 2011 ; Bostwick et Cheng, 2012 ; Garnick, 2016) (Figure 10).



Figure 10 : Processus des lésions PIN

A : cellules épithéliales normales ; B : lésions PIN de haut grade (les cellules deviennent volumineuses et de forme anormale) ; C : rupture de la couche épithéliale (Garnick, 2016).

4.2 Extension

L'adénocarcinome localisé dans la prostate peut s'étendre progressivement vers la capsule prostatique. Une fois cette dernière est franchie, le CaP s'étend dans le TAPP puis vers les vésicules séminales et la vessie par contiguïté (extension directe le long des canaux éjaculateurs ou à partir de la graisse avoisinante). Les sites métastatiques les plus fréquents sont ganglionnaires et osseux (touchant préférentiellement le bassin, le rachis, les côtes et le sternum). Les métastases affectent principalement la moelle osseuse, induisent une perturbation des lignées hématopoïétiques et sont retrouvées dans plus de 80% des cas de décès attribuables au cancer de la prostate (Dayon, 2008 ; Ibrahim *et al.*, 2010 ; Massard et Fizazi, 2010 ; Allard, 2013).

4.2.1 Score de Gleason et grade tumoral

Le score de Gleason est une classification anatomopathologique et fait partie des critères pronostiques histologiques. Il est fondé sur le degré de différenciation de la tumeur. C'est le résultat d'une étude au microscope des cellules cancéreuses, obtenues par des biopsies ou une ablation de la prostate (la prostatectomie totale). Ce score est la somme des grades des deux populations tumorales les plus fréquentes dans la tumeur analysée. Ce système de classification exprime l'hétérogénéité de la différenciation au sein d'un même foyer tumoral en se basant sur 3 règles : l'existence de plusieurs populations tumorales dans la glande prostatique, ces populations peuvent être de grades différents et plus l'architecture de la glande est détruite, plus le pronostic est mauvais. Il définit cinq grades architecturaux, allant de 1 (le plus différencié, ressemblant à une cellule saine) à 5 (le moins différencié et le plus agressif) avec malignité croissante selon le stade de la dédifférenciation tissulaire (Labouret, 2011 ; Salomon, 2014) (Figure 11) (Annexe 1).

Le grade 1 est défini par une prolifération monotone de glandes simples arrondies et étroitement regroupées.

Dans le **grade 2**, les glandes sont aussi rondes, régulières, dispersées mais régulièrement réparties. Les grades 1 et 2 sont dits bien différenciés et moins agressifs.

Le **grade 3** correspond à une prolifération de glandes simples de forme variable ; rondes, tortueuses de diamètre variable et dispersées dans les glandes normales. Ce stade est moyennement différencié et l'agressivité est intermédiaire.

Dans le **grade 4**, les glandes sont désorganisées, fusionnantes et infiltrantes.

Dans le **grade 5**, on note la perte de toute forme de glandes ou de lumières glandulaires. Il s'agit d'une plage de cellules tumorales avec nécrose centrale. Les grades 4 et 5 sont considérés comme peu différenciés, la tumeur est agressive (Allard, 2013 ; Warnier, 2013 ; Salomon, 2014).

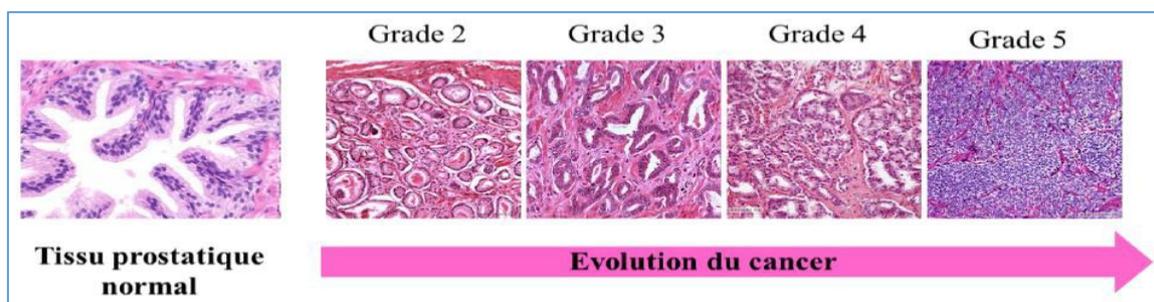


Figure 11 : Aspect histologique des différents grades du CaP selon la classification de Gleason (Warnier, 2013).

4.2.2 Bilan d'extension

Une fois la présence de cellules cancéreuses est confirmée par la biopsie tissulaire, l'enjeu est de déterminer le niveau d'envahissement tumoral par un bilan d'extension complet.

Le bilan d'extension permet d'évaluer le stade du cancer, le pronostic et de préciser les indications thérapeutiques afin de choisir la thérapie la mieux adaptée au patient.

Ce bilan évalue l'envahissement local, ganglionnaire et à distance du CaP. Il regroupe les données du TR, du dosage du PSA total, les données histologiques (score de Gleason) et les données de l'IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) qui évaluent l'extension locale et régionale, et les métastases à distance par scintigraphie osseuse (Dana et Fould, 2010 ; Labouret, 2011).

Le bilan d'extension doit être précis pour classer la tumeur à l'aide de la classification TNM qui repose sur 3 axes : la taille de l'extension locale de la tumeur (T) ; la présence d'adénopathie ou ganglion lymphatique (N pour *node*) et la présence des métastases (M) (Salomon *et al.*, 2010 ; Labouret, 2011 ; Warnier, 2013) (Annexe 2).

Il existe aussi la classification de D'Amico qui est aussi recommandée en parallèle au stade TNM. Elle utilise en effet le TNM, le score de Gleason et le PSA pour établir les groupes suivants :

- cancer à faible risque : PSA < 10 et Gleason < 6 et stade T1c ou T2a.
- cancer à risque intermédiaire : PSA entre 10 et 20 ng/ml, Gleason = 7 et stade T2b.
- le cancer à risque élevé : PSA > 20 ou Gleason > 7 ou stade \geq T2c.

4.3 Facteurs d'agressivité tumorale

Sur le plan histologique et biomoléculaire, les investigateurs ont identifié plusieurs facteurs d'agressivité tumorale afin de mieux comprendre les processus de la cancérogénèse prostatique. Le processus majeur est l'aneuploïdie, il a été démontré que les tumeurs de petit volume (< 0,02 cm³) sont diploïdes alors que les tumeurs de plus de 2 cm³ sont aneuploïdes et auraient une extension extra-prostatique et des capacités invasives et métastatiques.

Les réarrangements et les délétions chromosomiques, l'amplification des oncogènes et l'hyperméthylation de gènes suppresseurs de tumeur, ont également été identifiés et représentent une étape précoce de la cancérogénèse (Labouret, 2011 ; Warnier, 2013).

5. Symptômes du cancer de la prostate

A un stade précoce, le cancer de la prostate est asymptomatique et sa découverte peut être fortuite à cause de l'évolution lente de la tumeur et de sa localisation dans la zone périphérique de la prostate ou même extra-capsulaire qui ne comprime pas l'urètre. Ces symptômes sont non spécifiques et similaires à d'autres conditions bénignes telles qu'une infection ou l'hypertrophie bénigne de la prostate. A un stade plus avancé, la détection du CaP ne peut être qu'avec le dosage de PSA élevé et le TR. Cependant, si le CaP est localement avancé ou métastatique, il peut être révélé par différents symptômes (troubles mictionnels, douleurs, et autres) (Massard et Fizazi, 2010 ; Al Nakouzi, 2011 ; Rogez, 2014).

5.1 Troubles mictionnels

Les troubles mictionnels se manifestent le plus souvent par des difficultés d'uriner (dysurie) pouvant être accompagnées d'une insuffisance rénale originaire d'une obstruction de l'urètre et/ou des uretères, une diminution de la force du jet mictionnel, une fréquence excessive des mictions (pollakiurie), envies fréquentes d'uriner dues à la sensation de vidange incomplète de la vessie, et plus rarement par l'apparition de saignement (hématurie et/ou hémospémie) (Viennois, 2011 ; Rogez, 2014).

Ces symptômes ne sont pas spécifiques au CaP mais témoignent souvent d'un CaP étendu localement à l'urètre ou au col vésical palpable au TR (Stoti, 2008 ; Rogez, 2014).

5.2 Douleurs

Il s'agit de brûlures ou de douleurs lors de la miction et de l'éjaculation. D'autres douleurs apparaissent tardivement, localisées préférentiellement au niveau du bassin, du rachis dorsolombaire ou des côtes (Stoti, 2008 ; Al Nakouzi, 2011 ; Khan, 2011 ; Delongchamps, 2013 ; Rogez, 2014).

5.3 Autres symptômes

Le CaP se manifeste par une compression radiculaire (sciatique) ou médullaire avec paraplégie, une hypercalcémie, des fractures et l'ostéoporose. Ainsi, une atteinte vertébrale, beaucoup plus fréquente au niveau du thorax (52% des cas) que dans la région lombosacrée (23%) ou à plusieurs étages (19%) est constatée (Stoti, 2008 ; Massard et Fizazi, 2010).

Le CaP s'accompagne également d'une baisse de la force musculaire, d'une atteinte de la sexualité, d'une fatigue, des troubles de l'humeur (dépression) et du sommeil, des sueurs et des bouffées de chaleur (Cornu *et al.*, 2011).

6. Dépistage

Le dépistage du CaP consiste à rechercher la maladie de façon systématique dans une population asymptomatique. Son objectif principal est de détecter le CaP au stade asymptomatique pour augmenter les chances de guérison des patients, améliorer la qualité de vie de la population dépistée et réduire la mortalité.

Le dépistage du CaP repose sur des techniques de tests complémentaires (interrogatoire, dosage du PSA, TR, etc.), il concerne les hommes présentant des facteurs de prédisposition à partir de 45 ans et les hommes de 50 à 75 ans, c'est-à-dire, ceux ayant une espérance de vie supérieure à dix ans (Boissier, 2011 ; Sandblom *et al.*, 2011).

6.1 Interrogatoire

L'interrogatoire vise à rechercher les signes cliniques du CaP et évalue de manière systématique l'état de santé général, identifier les éventuels antécédents médicaux ou chirurgicaux personnels et familiaux, l'existence ou non de symptômes urinaires et maladies chroniques (HAS, 2012).

6.2 Toucher rectal

Le toucher rectal est un examen clinique qui consiste à palper la face postérieure de la prostate, sa morphologie, sa taille et sa texture avec le doigt à travers la paroi du rectum. Il donne ainsi accès à la zone périphérique pour détecter des anomalies de la glande prostatique.

Une prostate tumorale est suspecte avec une consistance plus dure que la prostate normale et peut être nodulaire, déformée, asymétrique ou volumineuse (Stoti, 2008 ; Cornu *et al.*, 2011 ; Loubeau, 2012 ; Rogez, 2014 ; El Ghazoui, 2016 ; Descotes, 2019).

6.3 Dosage du PSA total

A ce jour, c'est le marqueur biochimique principal utilisé dans le dépistage. Son dosage reste un meilleur prédicteur du CaP. Il est utilisé pour le diagnostic, le suivi du cancer de la prostate et indicateur de la réponse aux traitements. Il existe en effet une corrélation entre le taux sérique de PSA et le volume prostatique. Les cellules cancéreuses prostatiques sécrètent une quantité de PSA 10 fois plus que les cellules prostatiques normales, cela augmente sa concentration dans le sang (Jagla, 2007 ; Dayon, 2008 ; Salomon *et al.*, 2010).

Il est admis toutefois que la valeur normale est comprise entre 0 et 4 ng/ml, un taux de PSA compris entre 4 et 10 ng/ml est douteux et est significatif au-delà de 10 ng/ml, et le patient doit subir une biopsie prostatique (Lilja *et al.*, 2008 ; Roumiguié, 2013 ; Warnier, 2013).

6.4 Biopsie

La confirmation du diagnostic ne s'effectue que par biopsies prostatiques. Elles sont le seul examen permettant d'affirmer en cas de positivité de cancer. C'est l'examen complémentaire de référence qui permet de mettre en évidence des cellules cancéreuses. Elle consiste à prélever une douzaine de fragments du tissu prostatique à différents endroits de la glande avec une fine aiguille via le rectum à l'aide d'une sonde d'échographie endorectale.

Elle devra être réalisée chez les patients présentant une élévation du PSA total et/ou un TR suspect de malignité, dans le but d'établir un diagnostic définitif avec précision de l'agressivité tumorale en se référant au score de Gleason (Benattaa, 2012 ; Warnier, 2013 ; Vakar-Lopez et True, 2019).

6.5 Autres biomarqueurs de détection du cancer de la prostate

La spécificité diagnostique du PSA reste faible et conduit à de nombreux faux-positifs et faux-négatifs et à un nombre élevé d'indications de biopsies de prostate (Gauchez, 2011 ; Warnier, 2013).

De nombreuses études se sont intéressées à la recherche de nouveaux marqueurs spécifiques de CaP pour le diagnostic précoce et prédictif d'agressivité et pour un dépistage quelle que soit la forme. Ces marqueurs peuvent être classés en 3 catégories :

-marqueurs urinaires : les deux marqueurs urinaires les plus utilisés sont le test PCA3 urinaire et la détection de produits de gènes de fusion *TMPRSS2-ERG* (Trans Membrane Protease Serine 2- ETS Related Gene) dans les urines. La détection des cellules cancéreuses porteuses du gène *PCA3* (Prostate Cancer Gene 3) ou par le rapport (ARNm urinaire du *PCA3*/ ARNm urinaire du PSA) qui détermine le score PCA3 (Cornu *et al.*, 2011 ; Gauchez, 2011 ; Roumiguié, 2013 ; Warnier, 2013).

Le gène de fusion *TMPRSS2-ERG* et ses isoformes ont été classés comme un marqueur prometteur car il possède une forte spécificité et son expression est corrélée à celle des androgènes. Ils sont caractéristiques des tumeurs avancées et souvent volumineuses (Lamy *et al.*, 2013).

Les urines peuvent contenir également la sarcosine, une substance qui permet de désigner chez l'homme un cancer localisé ou métastatique. Ce test permet de réduire le nombre de biopsie (Cornu *et al.*, 2011 ; Gauchez, 2011 ; Warnier, 2013).

- marqueurs sanguins : ils regroupent TGF β -1 (Transforming Growth Factor β -1) ayant une expression associée à des CaPs de haut grade avec invasion et métastases, IL-6 (Interleukine 6), relative aux métastases, des cellules tumorales circulantes dans le sang et plusieurs autres biomarqueurs (Viennois, 2011 ; Warnier, 2013).

- marqueurs cellulaires : ils sont obtenus à partir de biopsies, ils déterminent la nature cancéreuse ou non d'une tumeur et regroupent des protéines golgiennes (GOLPH2) et des INhibiteurs de la Sérine Protéase (SPINK1) non spécifiques au CaP (Warnier, 2013).

7. Diagnostic du cancer de la prostate

7.1 Echographie sus pubienne

C'est l'examen de première intention chez un patient qui présente des signes urinaires en raison de sa facilité, sa disponibilité, et son coût bas qui permet d'apporter des renseignements sur le volume prostatique, la vessie et les voies excrétrices supérieures. Mais elle est toutefois supplantée par l'échographie endorectale.

7.2 Echographie endorectale

Elle est utilisée avant tout et reste l'examen de référence pour la réalisation des biopsies. Elle permet de visualiser la glande prostatique pour mesurer son volume et distinguer un cancer localisé d'un cancer extracapsulaire (Lattouf et Fred, 2007 ; Labouret, 2011).

7.3 Scanner abdomino-pelvien

C'est un examen d'imagerie, qui grâce aux rayons X et est recommandé pour les patients à risque intermédiaire ou élevé pour la détection d'une extension ganglionnaire. Il permet de visualiser de manière préférée à la radiographie et très précise la zone ciblée, l'extension extracapsulaire du CaP et les métastases pulmonaires, cérébrales, osseuses, etc (Labouret, 2011 ; Ahlimine, 2017).

7.4 Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

Son rôle essentiel est de diagnostiquer une extension extra capsulaire. Il permet d'évaluer l'extension locale (le franchissement capsulaire et l'atteinte des vésicules séminales) et l'extension régionale (l'atteinte ganglionnaire et métastases osseuse). L'IRM du CaP ressemble à un scanner mais utilise un champ magnétique au lieu de rayons, il détecte et localise une tumeur de volume significatif (diamètre > 5mm) non diagnostiquée par biopsie (Cornud *et al.*, 2010 ; Labouret, 2011).

7.5 Scintigraphie osseuse

C'est l'examen de référence pour rechercher des métastases osseuses, elle est indiquée chez les patients en cas de présence de grade de Gleason 4 et/ou de PSA supérieur à 10 ng/ml et/ou des douleurs osseuses. Cet examen détecte des lésions et métastases osseuses chez des patients asymptomatiques (Massard et Fizazi, 2010 ; Attard *et al.*, 2016).

8. Traitements du cancer de la prostate

Le CaP peut être traité par plusieurs méthodes thérapeutiques selon l'état de différenciation de la tumeur ainsi que son étendue, tout comme l'âge, la santé, les antécédents médicaux et chirurgicaux et l'état général du patient. Le but du traitement est de traiter les symptômes de la maladie pour améliorer la survie globale, réduire le risque de récurrence mais aussi de retarder les complications osseuses (Dallagi, 2010).

8.1 Traitement des cancers prostatiques localisés

Ces traitements locaux visent à enlever la tumeur ou à la détruire.

8.1.1 Prostatectomie radicale

Elle consiste en une ablation de la glande prostatique et des vésicules séminales par voie chirurgicale et qui assure le meilleur contrôle de la maladie. C'est un traitement de référence des cancers de la prostate localisés à risque faible et à risque intermédiaire. Selon les cas, elle est utilisée seule ou complétée d'une radiothérapie et/ou d'une hormonothérapie (Monge, 2009 ; Rogez, 2014).

8.1.2 Radiothérapie externe

Elle est prescrite aux patients atteints d'un CaP localisé ne pouvant pas subir d'opération chirurgicale. C'est une forme particulière de radiothérapie, elle consiste à exposer la prostate à des irradiations qui créent des lésions dans l'ADN pour détruire les cellules cancéreuses en les empêchant de se multiplier (Dallagi, 2010 ; Xylinas, 2012).

8.1.3 Curiethérapie

La curiethérapie est une option thérapeutique pour les tumeurs de la prostate à faible risque ou à certaines du groupe intermédiaire (est réservée aux tumeurs localisées, ne dépassant pas la capsule prostatique). Elle consiste à implanter par voie périnéale et sous contrôle échographique des grains radioactifs (Iode125) directement au sein de la prostate pour détruire la tumeur de l'intérieur (Dayon, 2008 ; Loubeau, 2012 ; Rogez, 2014).

8.2 Traitement des cancers prostatiques métastatiques

8.2.1 Hormonothérapie

Les traitements hormonaux freinent l'évolution du CaP en s'opposant à la fabrication et/ou à l'action des androgènes. Elle consiste à empêcher l'action stimulante de la testostérone sur les cellules cancéreuses pour stopper le développement du cancer. Ce traitement est réservé aux formes évoluées ou métastatiques, aux indications étendues au traitement des tumeurs récusées pour la chirurgie (du fait de la taille de la tumeur, du risque de chirurgie non complète, ...) et permettant ainsi, de ralentir la progression du cancer en conférant une qualité de vie décente au patient. L'hormonothérapie peut être appliquée par :

- **castration chirurgicale (orchidectomie vraie)** ou ablation des testicules pour une diminution d'environ 95% du taux d'androgènes dans le sang, donc la production de testostérone est définitivement arrêtée.
- **castration médicale ou chimique (orchidectomie)** par l'utilisation de médicaments hormonaux actifs qui diminuent le niveau de testostérone dans le sang.
- **blocage androgénique** par des molécules antagonistes des androgènes au niveau des récepteurs AR (Wilt et Thompson, 2006 ; Dallagi, 2010).

8.2.2 Chimiothérapie

La chimiothérapie n'est utilisée qu'en cas d'hormono-résistance. Elle est également appelée traitement systémique, car il circule et agit dans l'ensemble du corps. Cela permet d'atteindre les cellules cancéreuses quelle que soit leur localisation (Wilt et Thompson, 2006 ; Dallegi, 2010).

CHAPITRE III

Cancer de la prostate et génétique

La biologie moléculaire a démontré que le risque de développer un CaP agressif voire mortel est influencé par des facteurs génétiques pouvant être classifiés en formes familiales et formes héréditaires liées à des mutations rares (par la mise en évidence d'altération spécifique du génome au sein des tumeurs), ou des formes sporadiques dont les altérations sont acquises au cours de la vie, ce qui explique la plus grande fréquence des cancers lors du vieillissement (Cussenot et Cancel-Tassin, 2015).

1. Formes héréditaires et familiales du cancer de la prostate

L'hérédité est un facteur de risque de cancer de la prostate bien établi. Dans 95% des cas, l'hérédité est à la fois polygénique et multifactorielle, qui résulte de la combinaison des marqueurs génétiques, issue du mélange du patrimoine génétique des deux parents, causant un risque modéré de manifestation du CaP ou en association avec des facteurs environnementaux (Cornu *et al.*, 2011 ; Giusiano-Courcambeck, 2012).

La forme familiale correspond à au moins 2 cas de CaP dans la même famille, quel que soit l'âge au moment du diagnostic. Certaines formes sont liées à l'exposition des membres de la même famille à un carcinogène commun, alors que d'autres sont effectivement des formes héréditaires susceptibles d'être transmises aux générations successives. Les formes familiales représentent un risque multiplié par 5 par rapport à la population générale, soit 10-20% des cancers (Stoti, 2008 ; Wallis et Nam, 2015 ; Giri et Beebe-Dimmer, 2016).

Au sein des formes familiales, la forme héréditaire est définie par l'existence d'au moins 3 cas de CaP chez des apparentés du 1^{er} ou 2^{ème} degré du côté paternel ou maternel, ou 2 cas chez des apparentés du 1^{er} ou 2^{ème} degré diagnostiqués avant l'âge de 55 ans. Ainsi, il en résulte un risque de facteur 10 ou 20 par rapport à la population générale et représente 5-10% des cancers (Jagla, 2007 ; Stoti, 2008 ; Cornu *et al.*, 2011). Cette transmission héréditaire est de type mendélien à l'origine d'une prédisposition autosomique dominante, récessive ou liée au sexe (Cornu *et al.*, 2011 ; Kido et Lau, 2014 ; Wallis et Nam, 2015 ; Giri et Beebe-Dimmer, 2016) (Figure 12).

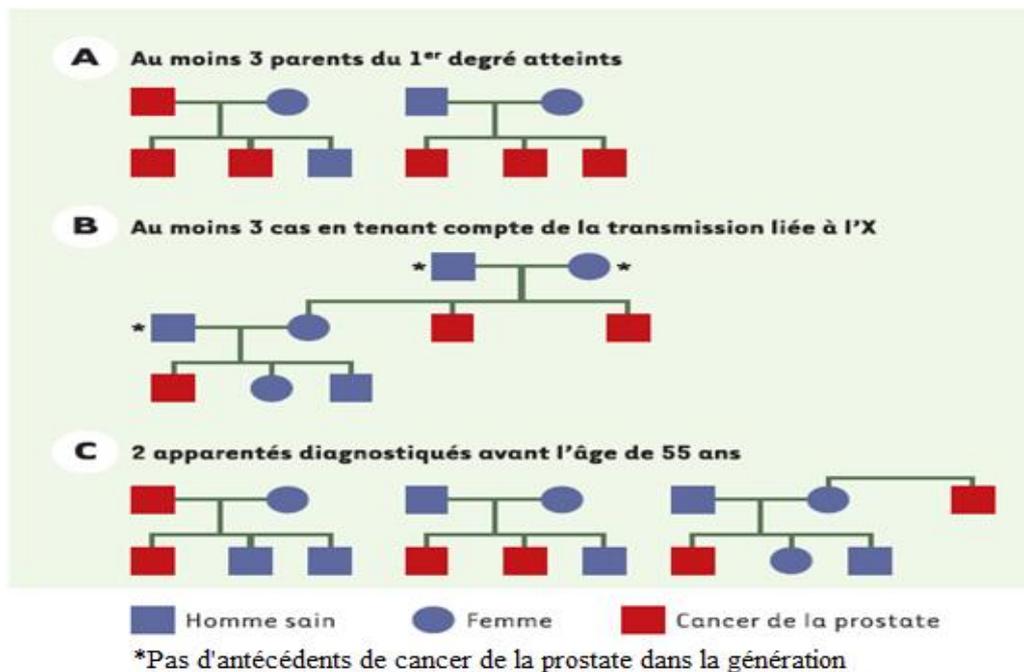


Figure 12 : Schéma montrant les critères cliniques de reconnaissance des formes héréditaires du cancer de la prostate (Giusiano-Courcambeck, 2012).

1.1 Gènes de prédisposition

Des gènes de prédisposition au CaP ont été identifiés sur le chromosome 1, le gène *HPC1* (Hereditary Prostate Cancer 1), au niveau de la région 1q24-25 et le gène *PCaP* (Predisposing for Prostate Cancer) au niveau de la région 1q42.2-43.

Plusieurs loci de prédisposition aux formes héréditaires ont également été déterminés sur différents chromosomes : *PGI* (Prostate cancer susceptibility gene) (8p22-23), *HPC2* (17p11), *HPC20* (20q13), *HPCX* (Xq27-28) (Figure 13).

D'autres loci de prédisposition, dans les régions chromosomiques 5q31-33, 7q32 et 19q12 seraient associés à des formes familiales particulièrement agressives de la maladie. Ces résultats soulignent l'hétérogénéité génétique de la prédisposition au cancer de la prostate dans sa forme héréditaire : double mode de transmission (autosomique dominant et lié au sexe) et implication variable des gènes de prédisposition selon l'origine ethno-géographique des familles (Jagla, 2007 ; Stoti, 2008 ; Giusiano-Courcambeck, 2012 ; Demichelis et Stanford, 2015 ; Rebbeck, 2017).

Peu d'études génétiques ont pu identifier la liaison entre le CaP et le chromosome Y. Ce dernier, comporte le gène *TSRY* (Yp11.2), codant la Protéine Spécifique Testiculaire Y (TSPY) qui accélère la prolifération cellulaire en se liant directement à son propre gène au niveau de l'exon

l et améliore ainsi, les activités transcriptionnelles du gène dans les cellules cancéreuses de la prostate (Cannon-Albright *et al.*, 2014 ; Kido et Lau, 2014).

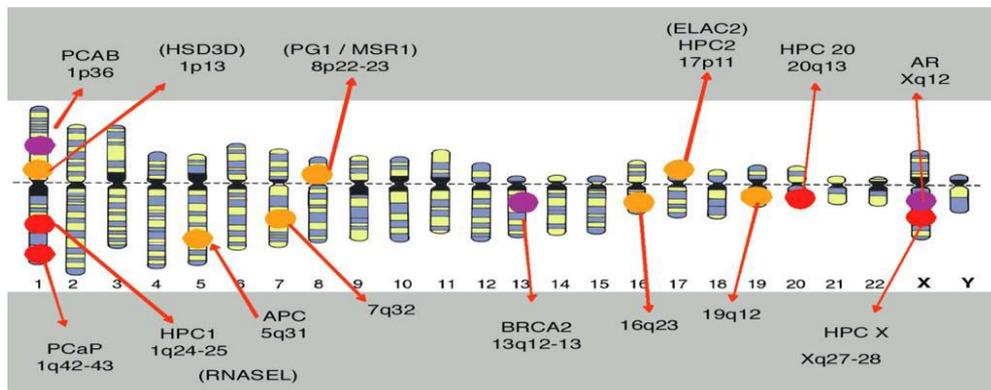


Figure 13 : Localisation chromosomique des gènes de prédisposition au cancer de prostate (Fournier *et al.*, 2004)

1.2 Cancer de la prostate et autres cancers

Des études épidémiologiques ont montré l'association entre le cancer de la prostate et d'autres cancers comme les cancers du sein, tumeurs cérébrales, lymphomes, cancers digestifs...ect (Lacave *et al.*, 2005). L'association de plusieurs cancers dans la même famille chez le sujet d'intérêt peut être à l'origine de l'existence d'un ou de plusieurs gènes de prédisposition héréditaire communs. Les gènes breast cancer 1 (BRCA1) (17q21) et breast cancer 2 (BRCA2) (13q12-13), prédisposant au cancer du sein et de l'ovaire héréditaire, ont également été évoqués pour le CaP. Il a été constaté que le risque de cancer prostatique est 1,4 fois plus élevé chez les hommes apparentés à une femme au 1^{er} et au 2^{ème} degré présentant un cancer du sein (Jordan, 2009 ; El Ghazoui, 2016).

L'association de CaP et de tumeurs cérébrales a été confirmée par la localisation d'un proto-oncogène commun ou gène prédisposant *CAPB* (Cancer Prostate and Brain) situé en 1p36, notamment retrouvé dans les formes familiales (Datta *et al.*, 2007).

2. Formes sporadiques du cancer de la prostate

Les formes sporadiques correspondent à la majorité des cancers prostatiques, sont reconnues par l'absence d'antécédents familiaux directs et peuvent se manifester selon différentes manières (Roehl *et al.*, 2006 ; Warnier, 2013).

2.1 Altérations cytogénétiques et pertes d'hétérozygoties

La perte d'hétérozygotie, anomalie génétique fréquente dans le CaP, touchant les gènes suppresseurs de tumeur. Les anomalies cytogénétiques impliquées dans le processus de

tumorigénèse consistent en la perte des chromosomes 1, 2, 4q, 5, 6q, 7q, 8, 9q, 10q, 14,16q, 22q et Y, ainsi que le gain du chromosome 7 (Shen et Abate-Shen, 2010 ; Ploussard, 2011 ; Kido et Lau, 2014 ; Fant, 2015 ; Nowacka-Zawisza *et al.*, 2015 ; Gandhi *et al.*, 2018).

2.2 Altérations épigénétiques

Les altérations épigénétiques sont très fréquentes dans les CaP et ont joué un rôle important dans le déclenchement et la progression de la carcinogenèse de la prostate.

L'hyperméthylation est un événement précoce de la carcinogénèse, inactivant la transcription d'un grand nombre de gènes. Parmi eux figurent des gènes régulateurs de la progression tumorale, des gènes codant pour les récepteurs hormonaux, des gènes impliqués dans la prolifération et la croissance cellulaires, ainsi que des gènes favorisant la réparation de l'ADN. Le premier gène étudié, dont l'expression est réprimée par hyperméthylation dans le cancer de la prostate est le gène *GSTP1* (Glutathione S-Transferase P1), localisé en 11q13, codant la glutathione S-transférase impliquée dans le mécanisme de détoxification et dans la protection contre le stress oxydatif. Son absence, sensibilise l'ADN du tissu prostatique aux dommages causés par les carcinogènes de l'alimentation, par les oxydants et par l'inflammation. Cette hyperméthylation est observée dans 90% des adénocarcinomes prostatiques et 70% PIN de haut grade.

De nombreuses études suggèrent que l'hyperméthylation des promoteurs se produit en deux vagues, la première initiant la transformation néoplasique, la seconde agissant sur les cellules déjà transformées et favorisant alors la progression tumorale. Il a ainsi été démontré que l'hyperméthylation des îlots CpG des gènes *GSPTP1*, *APC* (Adenomatous Polyposis Coli), *RASSF1A* (Ras ASSociation domain Family 1A), *COX2* (cyclooxygénase 2) et *MDR1* (Multi-Drug Resistance 1) est présente dans les cancers locaux et métastatiques, alors que l'hyperméthylation : de *ER* (Estrogènes Receptor α), *hMLH1* (human MutL Homolog 1) et *p14/INK4a* (protein 14 / INhibitor of cdK 4 protein a) se retrouve plutôt dans les cancers déjà métastatiques (Colombela *et al.*, 2010 ; Oudard *et al.*, 2010 ; Gao *et al.*, 2013 ; Henrique *et al.*, 2013 ; Netto *et al.*, 2017 ; Wang *et al.*, 2018).

Plusieurs autres mécanismes épigénétiques ont été mis en évidence, tels que l'acétylation, la phosphorylation des histones (H3K27-me3 : une triméthylation du résidu lysine 27 de l'histone H3 par l'enzyme EZH2), ainsi que l'existence de mi-ARN (micro-ARN) et d'IncARN (long non-coding RNA), sont à l'origine du CaP (Shen et Abate-Shen, 2010 ; Fant, 2015 ; Valdés-Mora et Clark, 2015 ; Wang *et al.*, 2018).

2.3 Altérations génétiques

2.3.1 Gènes de fusion

Des études ont mis en évidence des gènes de fusion chez plus de 50% des patients atteints de CaP, notamment chez ceux présentant un score de Gleason > 7 (Oudard *et al.*, 2010).

La fusion implique la région 5' non codante du gène *TMPRSS2* (Transmembrane Protease Serine 2), en 21q22.3, codant pour une sérine protéase fortement exprimée à la fois dans les cellules prostatiques normales et cancéreuses (sous l'action des androgènes et oestrogènes), et la région 3' non codante d'un des gènes de la famille de facteur de transcription ETS (Erythroblast Transformation-Specific) renfermant *ERG* (ETS-Related Gene), localisé en 21q22.2 (le partenaire de fusion le plus fréquent du *TMPRSS2*), *ETV1* (ETS-Translocation Variant 1) en 7p21.2 ou *ETV4* en 17q21. Cette famille de gènes *ETS* code des facteurs de transcription intervenant dans les voies de signalisation, régulateurs de la croissance cellulaire, la différenciation et la cancérogenèse. Ces fusions géniques récurrentes sont dues à des délétions introniques sur les chromosomes 21q22.2-3 et provoquent une surexpression d'ERG et d'autres protéines tronquées ou anormales (Beuzeboca *et al.*, 2009 ; Oudard *et al.*, 2010 ; Barbieri *et al.*, 2012).

2.3.2 Le gène homéotique *NKx3.1* (NK3 homeobox 1)

Le gène *NKX3.1* code pour une protéine homeobox impliquée dans la morphogénèse des canaux prostatiques et dans la différenciation et l'acquisition des fonctions sécrétoires par les cellules épithéliales prostatiques. La délétion du chromosome 8 est un événement précoce de la carcinogénèse prostatique observée au stade PIN et est fréquemment retrouvée dans les cancers de la prostate (Shen et Abate-Shen, 2010; Gandhi *et al.*, 2018 ; Wang *et al.*, 2018)

2.3.3 Gène des récepteurs aux androgènes (RA)

Les récepteurs des androgènes sont les médiateurs de l'activité des androgènes et jouent un rôle clé dans le développement de la prostate parce qu'ils appartiennent à la voie de signalisation centrale de la fonction physiologique de la glande prostatique (Hatcher *et al.*, 2009 ; Shen et Abate-Shen, 2010). Le gène *AR* a été particulièrement étudié dans les CaPs du fait de l'hormono-dépendance de la prostate et du CaP. C'est un facteur de transcription nucléaire ligand dépendant, situé en Xq11-12 et il s'étend sur environ 90 kb et comporte 8 exons. Ce gène est également impliqué dans la progression tumorale, notamment à la phase d'échappement hormonal vers la résistance à la castration. Les altérations de ce gène induisent une prolifération cellulaire même en son absence ou à des taux d'androgènes très bas (Ravel *et al.*, 2007). L'apparition de mutations du RA est décrite dans 10 à 50% des cancers de prostate. Ces

altérations consistent en une surexpression des RA, ce qui rendent les cellules androgéno-dépendantes, sensibles à des taux très bas de DHT. D'un point de vue fonctionnel, des mutations touchant le gène des RA sensibiliseraient ces récepteurs aux d'autres ligands tels que les glucocorticoïdes, les oestrogènes, la progestérone et les androgènes adrénaliens (Fant, 2015).

2.3.4 Gènes *HSP90*

Les Heat shock protéines (HSP) sont des molécules chaperonnes ayant pour fonction la protection cellulaire en réponse au stress. La famille HSP90 (Heat Shock Proteins 90kDa) comporte 17 gènes très conservés, répartis sur plusieurs chromosomes (1, 3, 4, 6, 11,12, 13, 15 et 16). Les protéines HSP90 peuvent également réguler plusieurs événements nucléaires contribuant à la carcinogenèse en se liant par exemple à la protéine oncogénique antiapoptotique BCL-6 (B-cell lymphoma 6) (impliquée dans la cascade de l'apoptose cellulaire), dont le complexe supprime la transcription de nombreux gènes suppresseurs de tumeurs (Dayon, 2008 ; Fant, 2015). Le rôle le plus crucial des protéines HSP90 dans la carcinogenèse du CaP repose sur son action sur les RA, en modulant leurs localisations cellulaires, leur stabilité et leur habilité à se lier et avoir une activité transcriptionnelle. En outre, la surexpression de HSP90 est rapportée lors de CaP avancé à haut score de Gleason (Hao *et al.*, 2010 ; Fant, 2015).

2.3.5 Gène *PTEN* (Phosphatase and TENsin homolog)

Le gène *PTEN* situé sur le chromosome 10. C'est le gène suppresseur de tumeur le plus souvent muté dans les cancers de la prostate. C'est un régulateur négatif de la voie PI3K (phosphoinositide 3-kinase)/Akt (protein kinase B) et sa délétion stimule la prolifération et la survie cellulaire. La perte de *PTEN* (10q23) est fortement corrélée à une plus grande agressivité des tumeurs prostatiques, avec l'apparition de métastases et avec grande probabilité d'échappement aux anti-androgènes (Dong, 2006; Shen et Abate-Shen, 2010 ; Grelet *et al.*,2018).

2.3.6 Gène *Bcl-2* (B-cell lymphoma 2)

Le gène *Bcl2* est localisé sur le bras long du chromosome 18, en position 18q21.3. Ce gène code pour une protéine membranaire, impliquée dans la cascade de l'apoptose cellulaire et associé à l'hormono-résistance (Ploussard, 2013).

2.3.7 Gène *c-MYC*

Le gène *c-MYC* (cellular-MYelo-Cytomatosis) localisé en 8q24, s'étale sur 6001 pb. Il code pour un facteur de transcription ayant un rôle dans la prolifération cellulaire, l'apoptose et le contrôle de la réplication. Cependant, la dérégulation du proto-oncogène *c-MYC* le rend oncogène par surexpression. Cette dérégulation est observée dans 40% des tumeurs prostatiques localisées et 90% des métastases (Dong, 2006 ; Shen et Abate-Shen, 2010 ; Wang *et al.*, 2018).

2.3.8 Gène *TP53INP1*

Le gène *TP53INP1* (Tumor Protein 53-Induced Nuclear protein), situé en 8q22. Il code pour deux isoformes : TP53INP1 α et TP53INP1 β , qui semblent tous les deux être des éléments clés de la fonction de la p53. Il exprime la protéine pro-apoptotique TP53INP1 sous l'action de la p53 en cas de stress et il est un élément clé pour le fonctionnement de la p53. Cependant, une fois que la TP53INP1 est surexprimée en cas d'inflammation, elle peut induire la carcinogenèse prostatique et augmente ainsi, la tumorigenèse (Giusiano-Courcambeck, 2012 ; Shahbazi *et al.*, 2013).

2.3.9 Gène *TP53*

Le gène *TP53* est un gène suppresseur de tumeur, localisé en 17p13.1, code la protéine p53 qui coordonne plusieurs points de contrôle du cycle cellulaire, l'entrée en sénescence, la réparation de l'ADN ou encore l'induction de l'apoptose. La mutation de ce gène, événement tardif de la carcinogenèse prostatique, est retrouvée dans 6% de lésions de PIN, 11% des lésions de cancer et atteint son niveau le plus haut 56% des lésions de cancer métastatique (Ecke *et al.*, 2010 ; Giusiano-Courcambeck, 2012 ; Fant, 2015 ; Andrysik *et al.*, 2017).

2.3.10 Gène *PCA3*

Le gène *PCA3*, spécifique du CaP, se situe en 9q21-22 et comprend 4 exons. Sa structure génomique est riche en codons stop, indique que ce gène n'encode pour aucune protéine et donne naissance à un ARNm non codant, surexprimé entre 60-100 fois dans 95% des tumeurs prostatiques, et ce comparativement aux cellules prostatiques normales (Ploussard, 2013).

3. Gènes de transformation des xénobiotiques

Les organismes vivants sont exposés en permanence à des espèces chimiques toxiques exogènes et endogènes, ce qui peut avoir des effets néfastes et parfois mortels. L'organisme possède un système multienzymatique complexe permettant de neutraliser les effets toxiques de plusieurs composés carcinogènes auxquels il est constamment exposé, rassemblés sous le terme de xénobiotiques (du grec *xenos*, *étranger*). Il peut s'agir de produits naturels, des médicaments, des polluants de l'environnement : toxines végétales et animales, additifs alimentaires, herbicides, pesticides, dérivés des combustibles domestiques et industriels, solvants et colorants.

Les enzymes métabolisant les xénobiotiques (EMX), codées par une famille de gènes métabolisant les xénobiotiques (*GMX*), jouent un rôle majeur dans la biotransformation et la détoxification. Ce processus représente l'ensemble des réactions biochimiques que subissent les substances endogènes et exogènes (xénobiotiques) dans le but de faciliter leur excrétion hors de l'organisme (Cerliani *et al.*, 2016).

Ce métabolisme est bi phasique, comportant une phase I de "fonctionnalisation" qui a pour but d'augmenter la polarité de ces substances et de les préparer à subir d'autres modifications au cours des réactions de la phase II dites de "conjugaison" (Peddireddy *et al.*, 2016). En effet, cette dernière permet l'ajout d'un radical chimique hydrophile tel que le glutathion soit directement sur le xénobiotiques inchangé, soit sur les métabolites "fonctionnalisés" générés par la phase I. L'élimination de ces conjugués hydrophiles s'effectue par des glycoprotéines membranaires permettant le transport actif des produits de la phase II hors de la cellule (Board *et al.*, 2013 ; Galal *et al.*, 2015 ; Sharma *et al.*, 2015).

Les réactions de la première phase constituent le premier passage, elles sont principalement catalysées par les enzymes du cytochrome P450. Ces dernières font parties de différentes familles et elles catalysent différentes réactions telles que l'hydroxylation, la déhalogénéation et la décarboxylation (Munro *et al.*, 2013).

A la suite du processus métabolique de la phase I certains substrats seront excrétés car ils ont atteint leur stade final de biotransformation. D'autres substrats peuvent être conjugués avec des composés endogènes et subir ainsi une réaction de la phase II. Cette dernière est catalysées par des transférases microsomales ou cytosoliques. Les transférases augmentent le plus souvent l'hydro solubilité du substrat et aboutissent en général à des composés biologiquement inactifs.

3.1 Cytochromes P450

3.1.1 Structures et mécanismes d'action des cytochromes P450

Les cytochromes P450 (*CYP*) forment une superfamille multigénique d'enzymes hépatiques clés de la fonction de détoxification. Plus spécifiquement, les enzymes de la famille I des cytochromes P450 sont impliquées dans plusieurs mécanismes cellulaires tels que le métabolisme oxydatif de molécules très diverses, comprenant aussi bien des xénobiotiques (médicaments, pesticides polluants, toxiques, cancérigènes...) que des substances endogènes (hormones stéroïdiennes, acides gras, vitamines...) (Monteiro *et al.*, 2010). Chez l'homme, leur expression majeure dans le foie, les CYP450s sont également exprimés au niveau des organes extra-hépatiques, comme les reins, les poumons, le coeur, l'intestin grêle, le côlon, le pancréas, la peau et le cerveau (Zanger *et al.*, 2013).

Les CYPs sont formés d'environ 500 acides aminés. L'alignement de toutes les séquences d'acides aminés des CYPs fait apparaître une très faible conservation et seuls trois acides aminés sont parfaitement conservés (Mestres, 2005). La partie la plus conservée est retrouvée dans le coeur de la protéine et reflète le mécanisme commun de transfert d'électrons, de protons et d'activation d'oxygène. La région la plus variable correspond à la partie amino-terminale impliquée dans l'adressage et l'ancrage à la membrane, à la séquence de liaison et de reconnaissance du substrat (Werck-Reichhart *et al.*, 2000 ; Cussenot et Cancel-Tassin, 2004 ; Le Broc, 2011 ; Merabet, 2012).

Dû au large nombre d'enzymes CYP450, un système de nomenclature standardisé a été mis au point. La classification des enzymes est basée sur les homologies de la séquence en acides aminés de ces protéines. Les enzymes sont nommées CYP, représentant le cytochrome P450, suivi par un chiffre qui dénote l'appartenance à la famille, une lettre qui renseigne sur la sous-famille et un second chiffre qui représente l'enzyme individuelle. Les enzymes qui ont une séquence commune de plus de 40% en acides aminés sont considérées de la même famille, tandis que celles ayant une homologie en acides aminés de plus de 55% appartiennent à la même sous famille (Maheux, 2012).

3.1.2 Classification

Les CYPs constituent une superfamille d'enzymes codées par 57 familles de gènes dont 12 familles et 22 sous-familles ont été décrites chez l'homme, et environ 15 dont leurs rôles physiologiques, leurs substrats et leurs structures, sont encore mal connus d'où le nom de « p450 orphelins » (George *et al.*, 1995 ; Lamott, 2002 ; Ducassou, 2012). Chez l'homme, les

familles les plus prépondérantes de CYP450 sont représentées par les familles *CYP1*, *CYP2* et *CYP3*.

La famille CYP1 comporte deux sous famille 1A et 1B. La sous famille 1A est composée de deux membres CYP1A1, CYP1A2 dont les séquences nucléiques sont très proches (92% de similitude) (Mikstacka *et al.*, 2008 ; Takemura *et al.*, 2010 ; Raccor et Kaspera, 2013 ; Dong *et al.*, 2016).

La famille CYP1 agit avec des substrats qui sont souvent des molécules planes telles que les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAPs) retrouvés dans la fumée du tabac et les polluants environnementaux tels que le pesticide chlorpyrifos et les PolyChloroBiphényles (PCBs) (Le Broc, 2011). L'expression de cette famille est contrôlée par le Récepteur Arylhydrocarbone (AhR), retrouvé principalement dans le cytoplasme des cellules de la prostate et d'autres organes et tissus. Lorsque le ligand entre dans le cytoplasme et se lie à l'AhR, le complexe résultant est alors transporté dans le noyau où il forme des dimères avec des protéines de Translocation Nucléaire de l'AhR (ARNT). Le complexe ligand-AhR-ARNT interagit ensuite, avec les éléments de réponse de l'AhR en se fixant en amont des gènes *CYP1A1*, *1A2* et *1B1* au niveau des promoteurs, pour activer la transcription ou la traduction des gènes (si le ligand est une dioxine, le 2,3,7,8 TCDD (TétraChloroDibenzo-p-Dioxin) ou d'autres molécules HAPs fortement hydrophobes, telles que les furanes) ou les réprimer (si le ligand est un oxystérol, le 7-cétocholestérol ou le resvératrol) (Gambier, 2006 ; Wessel, 2010 ; Le Broc, 2011).

L'enzyme CYP1A1 a un rôle clé dans l'activation des pro-carcinogènes (HAPs). Elles convertissent ces derniers en carcinogènes très puissants pouvant former des adduits qui se lient à l'ADN. Si les dommages de l'ADN ne sont pas réparés, cela peut conduire à l'apparition du cancer.

3.1.3 Gène *CYP1A1*

Le gène *CYP1A1* est localisé en 15q22-q24, contient 7 exons et 6 introns et s'étale sur 5 810 paires de base (Merabet, 2012).

3.1.3.1 Polymorphismes du gène *CYP1A1*

Au total, 11 polymorphismes ou variants alléliques de *CYP1A1* ont été décrits, dont quatre d'entre eux ont été les plus étudiés pour leur implication dans la modification du risque de la cancérogenèse : m1 (T3801C), m2 (A2455G), m3 (T3205C) et m4 (C2453A) (Gaikovitch, 2003 ; Merabet, 2012) (Figure14) (Annexe 4).

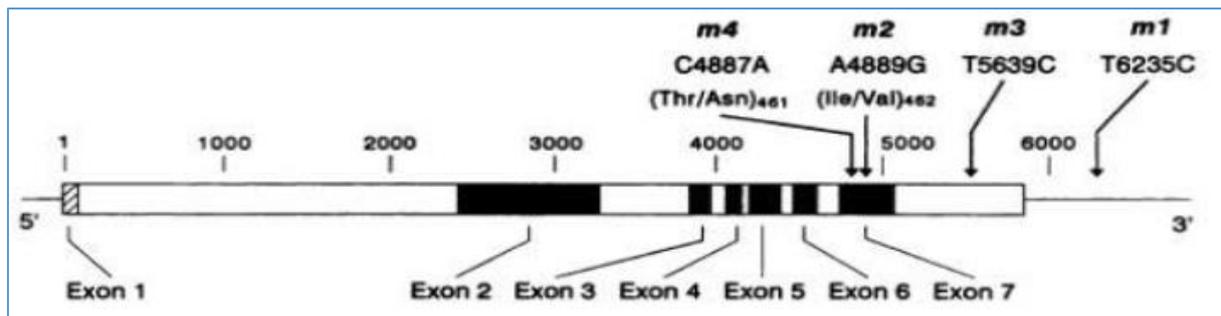


Figure 14 : Localisation des mutations m1, m2, m3 et m4 sur le gène *CYP1A1* (Merabet, 2012).

3.1.3.1.1 Polymorphisme T3801C

Le polymorphisme T3801C, T6235C, m1 ou *CYP1A1**2A, résulte d'un remplacement de la thymine par une cytosine au niveau de la 3801^{ème} paire de base (3801T>C) au niveau de la région non codante 3', en aval de l'exon 7 (Gaikovitch, 2003 ; Bag *et al.*, 2015).

Ce polymorphisme ne provoque donc, aucune substitution d'acide aminé mais peut générer une protéine fortement inductible par les HAPs avec une activité enzymatique augmentée (Gambier, 2006 ; Peng *et al.*, 2012 ; Bag *et al.*, 2015).

Le polymorphisme T3801C est également connu sous le nom de polymorphisme *MspI* (*Moraxella species I*) car il confère un site de restriction *MspI* supplémentaire (Bag *et al.*, 2015). Par ailleurs, plusieurs études épidémiologiques ont évalué l'association entre le polymorphisme T3801TC et le risque de développer un CaP mais les résultats sont contradictoires (Souiden *et al.*, 2012 ; Mandić *et al.*, 2014 ; Abdel-Razzak *et al.*, 2015 ; Bag *et al.*, 2015).

3.2 Glutathion S-transférases

Les glutathion S-transférases (GSTs) comprennent une superfamille d'enzymes métaboliques multifonctionnelles et ubiquitaires de phase II (Ali *et al.*, 2015). Les GSTs jouant un rôle clé dans la détoxification d'un grand nombre de composés hydrophobes et électrophiles endogènes et exogènes tels que les HAPs, benzo[a]pyrène, l'oxyde d'éthylène, le bromure de méthylène, différents alcanes halogénés et époxydes. Les GSTs constituent le principal système antioxydant défensif contre le stress oxydatif en réduisant l'oxygène, qui est généré par de nombreux xénobiotiques toxiques (Sharma *et al.*, 2015). Les GST assurent leur fonction de conjugaison grâce à l'existence de deux sites enzymatiques de liaison : le site « G » spécifique pour le glutathion, ainsi que le site « H » pour le substrat.

Chez l'homme, les GSTs sont préférentiellement synthétisés dans le foie, mais on les trouve également dans les reins, l'estomac et faiblement dans les muscles squelettiques et cardiaques.

Actuellement, les GSTs humaines sont classées selon leurs propriétés structurales (similarité des séquences nucléotidiques, localisations et nature du substrat) biochimiques (point isoélectrique) et immunologiques. Les GSTs sont constitués de nombreuses protéines cytosoliques, mitochondriales et microsomales. La famille cytosolique a été classée en huit classes distinctes : α (alpha), μ (mu), κ (kappa), ω (omega), π (pi), σ (sigma), θ (theta) et ζ (zeta) codées par les gènes *GSTA*, *GSTM*, *GSTK*, *GSTO*, *GSTP*, *GSTS*, *GSTT* et *GSTZ*, respectivement. Chaque classe comprend plusieurs gènes et isoenzymes. La classe alpha (*GSTA*) est représentée par 5 gènes (*GSTA1*, *A2*, *A3*, *A4* et *A5*), la classe thêta par 2 gènes *GSTT1* et *GSTT2* et la classe mu comprend 5 gènes : *GSTM1*, *M2*, *M3*, *M4* et *M5*. Enfin, un seul gène a été décrit dans chacune des classes kappa (*GSTK*) et pi (*GSTP*) nommés respectivement, *GSTK1* et *GSTP1*. Les autres classes restent mal connues (Bendjmana, 2008 ; Phuthong *et al.*, 2018).

3.2.1 *GSTM1*, gène et enzyme

3.2.1.1 Structure du gène *GSTM1*

Comme mentionné précédemment, les gènes de la classes mu (μ) sont au nombre de 5 : *GSTM1*, *GSTM2*, *GSTM3*, *GSTM4*, et *GSTM5*. Ils sont organisés en un cluster (avec une taille totale de 100 kb) au niveau du bras court du chromosome 1 (1p13.3) et sont espacés les uns des autres d'environ 20 Kb selon cette disposition : 5'-*GSTM4*-*GSTM2*-*GSTM1*-*GSTM5*-3. Ils représentent une similarité de 85% entre chaque gène (Rashidi et Suhaili, 2019).

Parmi les polymorphismes les plus étudiés, ceux relatifs à la sous-classe *GSTM1*. Le taux d'expression du *GSTM1* est maximal dans le vagin, les ovaires, le foie, l'œsophage, la glande surrénale et la vessie, ainsi au niveau du cerveau, des lymphocytes, des muscles et enfin au niveau des gonades. Le *GSTM1* est situé entre *GSTM2* et *GSTM5* et séparé de ces deux gènes par la présence de régions flanquantes homologues de 4,2 kb de chaque côté du locus du gène (Figure 15).

Il existe deux isoformes principales du gène *GSTM1*, l'isoforme 1 est constitué de 8 exons et 7 introns avec une taille de 5,92 kb qui donne une protéine de 218 aa tandis que l'isoforme 2 contient que 7 exons et donne une protéine plus courte de 37 aa (Pearson *et al.*, 1993 ; Xu *et al.*, 1998) (Figure 16).

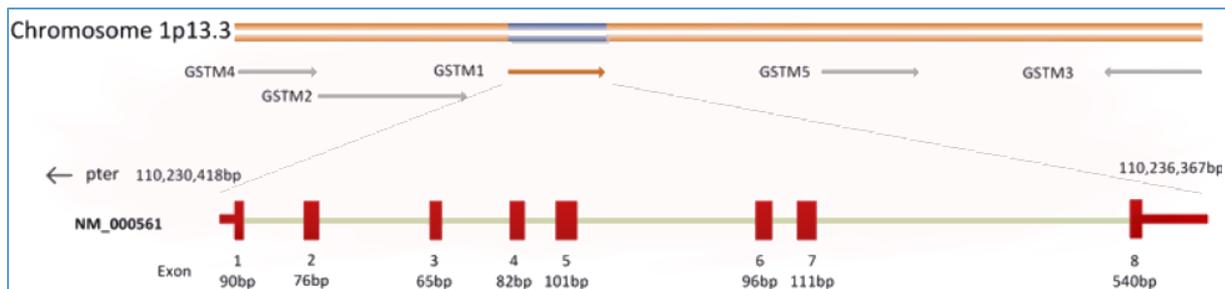


Figure 15 : Structure du gène *GSTM1*.

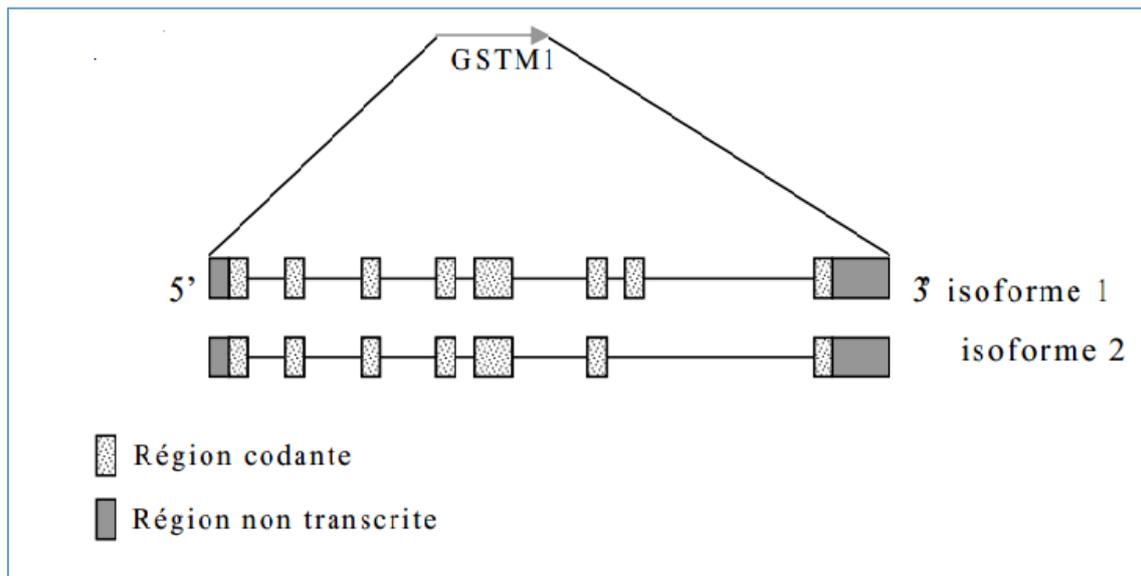


Figure 16 : Structure des isoformes du gène *GSTM1*.

3.2.1.2 Polymorphismes du gène *GSTM1*

Le *GSTM1* est un gène polymorphe et possède trois variants alléliques *GSTM1*0*, *GSTM1*A* et *GSTM1*B*. Parmi les polymorphismes les plus étudiés du gène *GSTM1*, la délétion complète du gène, qui est un polymorphisme de nombre de copies, on parle dans ce cas de génotype nul et on note *GSTM1*0*, *GSTM1-nul* ou *GSTM10/0*. Cette délétion homozygote complète résulte d'un phénomène de crossing over inégal entre les deux régions adjacentes répétées de 4,2kb, qui flanquent le gène *GSTM1* et qui provoque une délétion de 15kb incluant le gène entier (Xu *et al.*, 1998) (Figure 17). Cette forme allélique conduit à l'absence complète de la protéine correspondante, à un déficit enzymatique total et a pour conséquence la dérégulation de l'activité globale des gènes *GSTs*.

L'étude de Kelada *et al.* (2000) a permis l'identification de deux autres allèles, l'allèle *GSTM1*A* et l'allèle *GSTM1*B* fonctionnellement identiques. L'allèle *GSTM1*A* est le résultat d'une transversion C-G en position 534 de l'exon 7 du gène et *GSTM1*B* diffère de *GSTM1*A* seulement par 1 seul acide aminé K172N (substitution d'une lysine par asparagine). Cet

échange n'affecte pas la fonction enzymatique (Bendjmana, 2008). Entre-temps, une surexpression de *GSTM1* a été présentée dans l'allèle *GSTM1*1X2* qui résulte d'une duplication génétique. Par conséquent, cet allèle particulier augmente la fonctionnalité du *GSTM1* expliquant ainsi l'activité ultrarapide de l'enzyme GSTM1 observée dans certains cas.

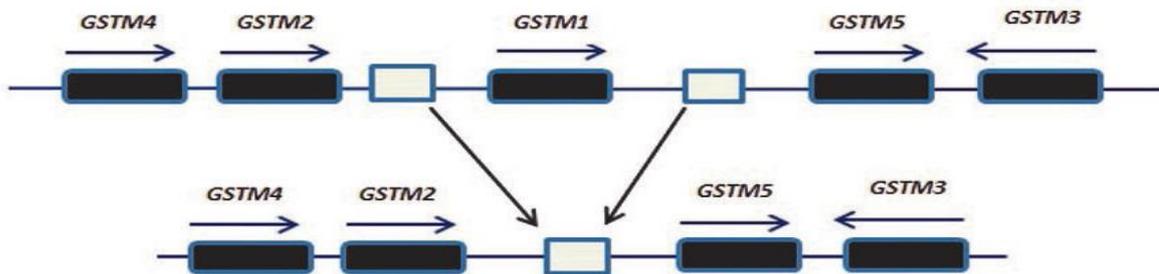


Figure 17 : Mécanisme d'apparition de la délétion GSTM1.

3.2.1.3 Fréquence du *GSTM1*0/0*

Une variation de la fréquence du génotype nul a été observée entre les 3 grands groupes ethniques caucasien, asiatique et africain. Selon diverses études menées sur des populations européennes, l'enzyme GSTM1 est donc inactive chez 47% à 58% (Rebbech, 1997). Ainsi, les deux copies du gène *GSTM1* sont supprimées chez environ 50% des hommes asiatiques et chez environ 30% des américains et des brésiliens d'origine africaine (Rashidi et Suhaili, 2019). En Algérie, le génotype *GSTM1 0/0* est retrouvé avec une fréquence de 44.7% (Hireche *et al.*, 2018).

D'autre part, il existe une variation au sein d'un même groupe ethnique, cette variation résulte de différents facteurs tels que la taille de l'échantillon étudié, la tranche d'âge et la source de leur sélection (Bendjmana, 2008).

3.2.2 *GSTT1*, gène et enzyme

3.2.2.1 Structure du gène *GSTT1*

La classe thêta comprend deux protéines, *GSTT1* et *GSTT2*.

Le gène *GSTT1* est précisément localisé en 22q11.23 et s'étend sur 8129 pb à approximativement 50 kb de *GSTT2*. Chacun des deux gènes contient 5 exons et 4 introns et ils partagent 55% d'identité de séquence d'acides aminés. Ils sont tous les deux impliqués dans la carcinogénèse (Rashidi et Suhaili, 2019). L'épissage alternatif de *GSTT1* donne plusieurs variants de transcription, actuellement 9 variants sont répertoriés dans la banque des données (NCBI, 2017).

Comme pour *GSTM1*, le gène *GSTT1* présente une complète délétion due à une recombinaison homologue entre deux régions hautement homologues et qui se trouvent de part et d'autre du gène (Sprenger *et al.*, 2000 ; Parl, 2005). Il existe une hypothèse qui suggère qu'une duplication ancestrale du gène *théta* a eu lieu avant la spéciation des mammifères et qui a abouti à l'apparition des gènes *GSTT1* et *GSTT2* (Figure 18) (Landi, 2000).

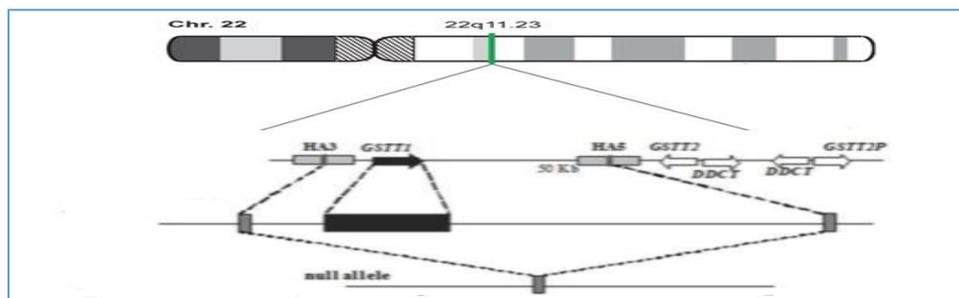


Figure 18 : Position et structure du gène *GSTT1*.

3.2.2.2 Polymorphismes du gène *GSTT1*

Une différence inter individuelle dans le métabolisme du méthyle chlorure a été observée, montrant l'existence de trois groupes d'individus différents par le degré d'élimination métabolique du produit. Ce polymorphisme génétique au sein de *GSTT1* correspondant à une délétion partielle de 54 251 pb. En effet, en fonction du génotype *GSTT1*, les sujets sont classés en trois catégories : métaboliseurs nuls, lents et rapides.

Ainsi, trois allèles sont décrits pour cette classe : *GSTT1**A, *GSTT1**B et *GSTT1**0 ou *GSTM1-nul* correspondant respectivement à l'allèle sauvage, à une variation nucléotidique au niveau du codon 310 (310A>C) qui transforme le résidu thréonine 104 en proline et à une délétion du gène *GSTT1* (Bendjmana, 2008).

3.2.2.3 Fréquences du *GSTT1* *0/*0

Comme pour le gène *GSTM1*, la fréquence de ce génotype présente des variations interethnique et intra-ethnique. La prévalence de la délétion du *GSTT1* est nettement plus élevée chez les asiatiques (41%) et plus faible chez les caucasiens et les africains avec seulement 20% (Rashidi et Suhaili, 2019). Ainsi le gène *GSTT1* et son activité sont absents chez 14,75% de la population tunisienne. Dans la population européenne, cette fréquence est de 13% à 25% et elle est de 20% chez les américains (Mallick *et al.*, 2007 ; Souiden *et al.*, 2012). En Algérie, selon l'étude de Hireche et ses collaborateurs (2018) le génotype *GSTT1-nul* est présent chez 26,6% de la population.

4. Facteurs de l'angiogénèse

4.1 Généralités sur l'angiogénèse

L'angiogénèse est définie comme l'ensemble des processus menant à la formation de nouveaux capillaires sanguins par l'excroissance ou le bourgeonnement de vaisseaux préexistants (Azzi *et al.*, 2014 ; Hicklin, 2016).

Dans des conditions physiologiques normales, cette néovascularisation est finement contrôlée et joue un rôle fondamental dans les fonctions reproductrices (régénération de l'utérus, formation du corps jaune (*corpus luteum*) et du placenta), la réparation tissulaire lors de blessures et d'ischémies cardiaque et périphérique, ainsi que dans le développement embryonnaire (Folkman *et al.*, 1992 ; Treps *et al.*, 2015). Mais elle peut aussi, se rencontrer dans d'autres situations pathologiques : les tumeurs au sens large (benignes ou malignes) et les pathologies non-tumorales (ex : rétinopathie diabétique, DMLA (dégénérescence maculaire liée à l'âge), psoriasis et la polyarthrite rhumatoïde). Ce processus est régulé par une balance entre des molécules favorisant l'angiogénèse appelées pro-angiogéniques (*VEGF* (Vascular Endothelial Growth Factor), *PDGF* (platelet derived growth factors), *FGF* (fibroblast growth factors) ...) et des molécules la limitant appelées anti-angiogéniques (angiostatine, thrombospondine...) (Folkman *et al.*, 1972 ; Hanahan *et al.*, 2011 ; Miller *et al.*, 2013 ; Azizi *et al.*, 2014).

4.2 Mécanismes de l'angiogénèse

L'induction de l'angiogénèse est une phase qui a pour unique objectif d'activer localement certaines cellules endothéliales quiescentes de la paroi capillaire. Cette activation permet aux cellules endothéliales d'acquérir le phénotype angiogénique (prolifération, différenciation, migration) nécessaire à la mise en place de néovaisseaux.

Lors de l'angiogénèse pathologique ou physiologique, le mécanisme moléculaire est le même, ce sont des mécanismes complexes et qui impliquent de multiples voies de signalisation. Le mécanisme initiateur dépend de la situation dans laquelle la cellule se trouve, ensuite, la cascade d'évènement qui survient est identique dans toutes les angiogénèses.

L'angiogénèse se développe selon deux mécanismes fondamentaux : par bourgeonnement et par l'intussusception. Au niveau tumoral, le modèle de l'angiogénèse par bourgeonnement est le principal.

L'angiogénèse par **bourgeonnement** ou sprouting angiogenesis est le mécanisme le mieux caractérisé (Figure 20). Elle se déroule selon des étapes séquentielles : phase d'initiation, phase d'activation et phase de maturation.

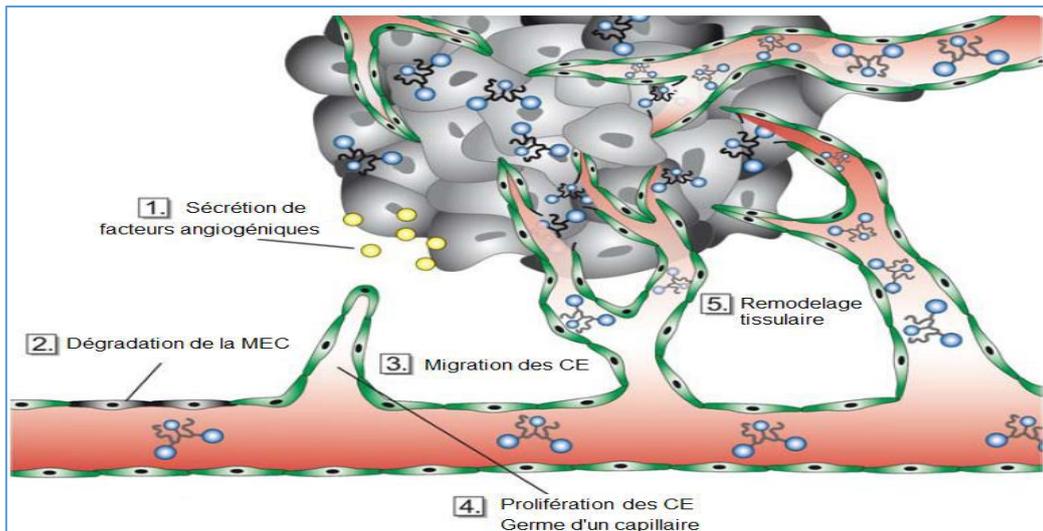


Figure 20 : Schéma montrant les tapes principales de l'angiogenèse par bourgeonnement (Satchi-Fainaro *et al.*, 2006).

4.3 Phases de l'angiogenèse tumorale

Au début de la prolifération tumorale, la tumeur est de petite taille, ceci autorise la diffusion de l'oxygène et des nutriments à partir des vaisseaux sanguins peri-tumoraux car celle-ci est située toute proche des vaisseaux sanguins.

4.3.1 Phase d'initiation

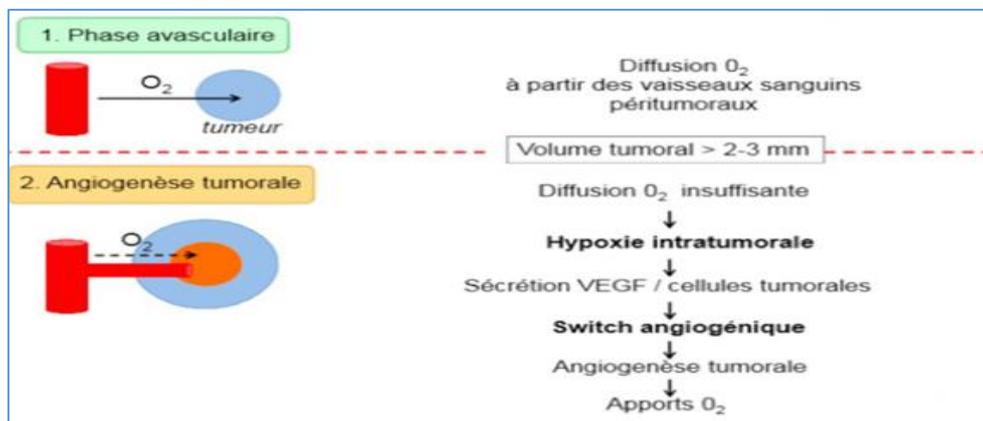


Figure 21 : Schéma montrant la phase d'initiation de l'angiogenèse.

4.3.1 Phase d'activation

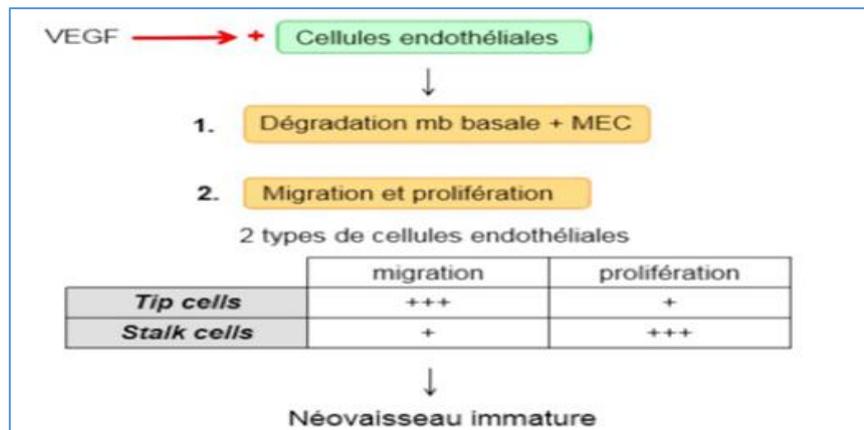


Figure 22 : Schéma montrant la phase d'activation de l'angiogenèse.

4.3.2 Phase de maturation

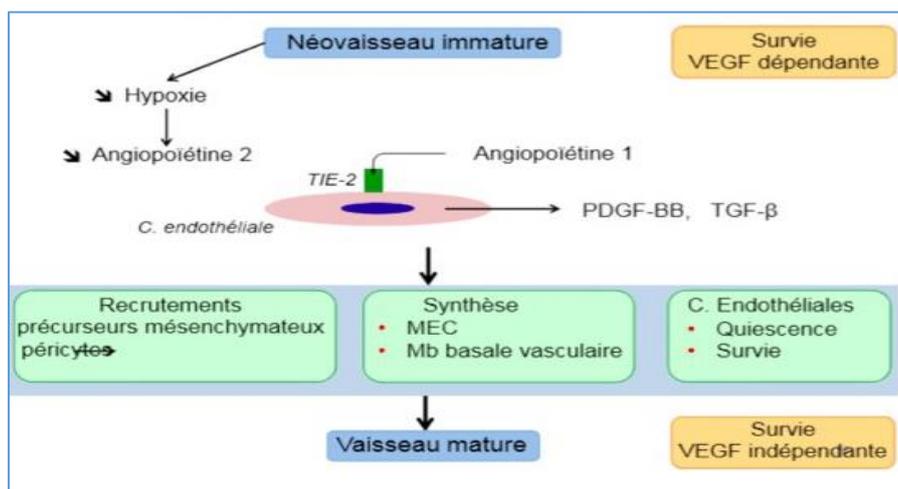


Figure 23 : Schéma montrant la phase de maturation de l'angiogenèse.

L'analyse des mécanismes moléculaires de l'angiogenèse a conduit à l'identification de plusieurs familles de protéines, en particulier *VEGF*.

4.4 *VEGF* (Vascular Endothelial Growth Factor) et ses récepteurs

4.4.1 *VEGF*

C'est le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire. Comme son nom l'indique, il a une action spécifique sur les cellules endothéliales. Le *VEGF* est reconnu actuellement comme le facteur principal de l'angiogenèse (Folkman *et al.*, 1971 ; Leung *et al.*, 1989 ; Plouet *et al.*,

1989). Cette protéine a été dénommée VPF pour vascular permeability factor qui est un médiateur spécifique de l'hyperperméabilité vasculaire des tumeurs (Senger *et al.*, 1983).

Des études réalisées ont montré l'importance du facteur VEGF dans des processus angiogéniques normaux et pathologiques. Elles ont révélé l'existence de toute une famille de peptides angiogéniques apparentés à VEGF et de récepteurs à activité tyrosine kinase produits sélectivement par les cellules endothéliales vasculaires. Le gène humain du *VEGF* se localise sur le chromosome 6 en p21.3. Il est composé de 8 exons séparés de 7 introns et la séquence codante s'étend sur 13 kb (Zhang *et al.*, 2015; Attia *et al.*, 2017).

Il s'agit en fait d'une famille qui comprend 5 membres : les *VEGF-A*, *B*, *C*, *D* et le *PlGF* (Placental Growth Factor).

Le plus étudié est le *VEGF-A* couramment appelé *VEGF*. Le VEGF est une glycoprotéine homodimérique de poids moléculaire d'environ 45 kDa dont l'expression est fortement stimulée par l'hypoxie via *HIF1 α* . Cinq différents ARNm produits par épissage alternatif ont été identifiés à partir de banques d'ADNc humains. Ces espèces, *VEGF121*, *VEGF145*, *VEGF165*, *VEGF189* et *VEGF206* génèrent des protéines de 121-145-165-189 et 206 acides aminés respectivement (Figure 24)(Alitalo *et al.*, 2005 ; Heloterä *et al.*, 2007 ; Shibuya, 2008 ; Peach *et al.*, 2018).

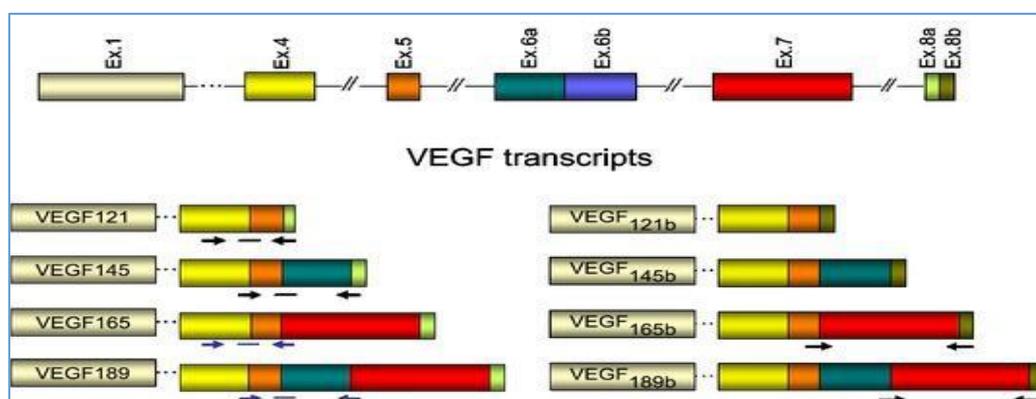


Figure 24 : Les différents isoformes du VEGF (Elias and Dias, 2008).

4.4.2 Les récepteurs

Tous les membres de la famille *VEGF* se lient à des récepteurs à activité tyrosine kinase qui possèdent un seul domaine transmembranaire (Bruns *et al.*, 2009 ; Koch *et al.*, 2011 ; Tammela *et al.*, 2011) (Figure 25).

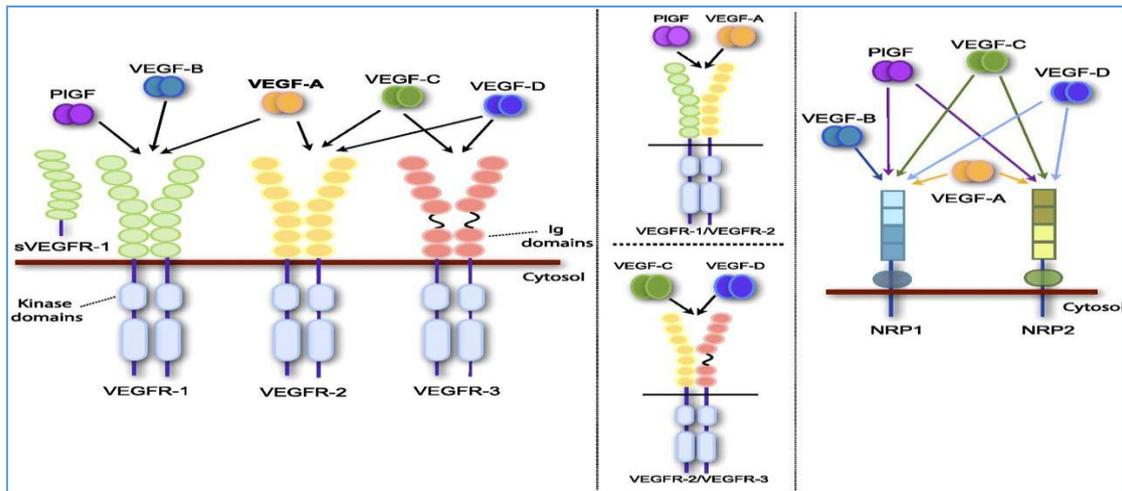


Figure 25 : Les membres de la famille du VEGF (A-B-C-D et PIGF) et ses récepteurs VEGFR-1,2,3 et NRP1,2) (Ruiz de Almodovar *et al.*, 2009).

4.4.3 Polymorphismes du *VEGF*

Le gène du *VEGF* est hautement polymorphe et comporte de multiples SNPs au niveau du promoteur et en région 3'. Plus de 50 SNPs ont été décrits, dont environ une quinzaine pourraient avoir une valeur pronostique ou prédictive notamment dans le cancer du côlon, du sein, de la prostate de l'ovaire et des glioblastomes. Parmi ces polymorphismes qui ont un impact fonctionnel, nous citons -2578C/A, -2489C/T, -1498C/T, -1154G/A dans la région promotrice du *VEGF*, -634G/C, -7C/T dans la région non transcrite 5' et 936 C/T, 1612G/A dans la région non transcrite 3'. En outre, ces SNP sont liés à la synthèse de la protéine du VEGF et qui sont particulièrement impliqués dans l'angiogenèse tumorale (McCarron *et al.*, 2002 ; Morohashi *et al.*, 2003 ; Yang *et al.*, 2003 ; Awata *et al.*, 2005).

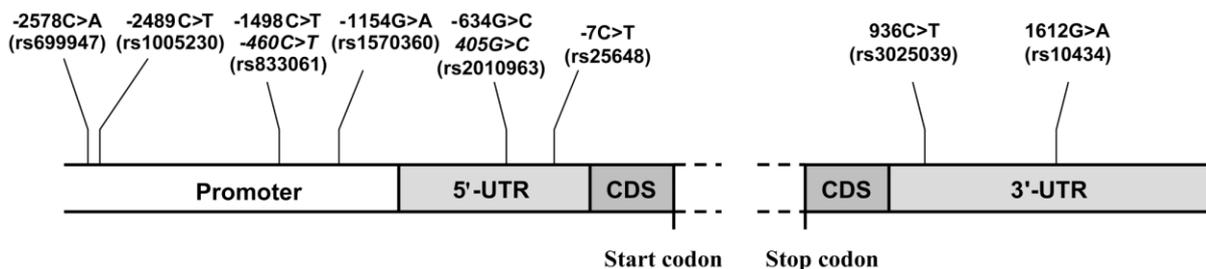


Figure 26 : Structure du gène *VEGF* et la position de ses polymorphismes (Langsenlehner *et al.*, 2008).

Les lignes pointillées indiquent une région de 13 kb entre les polymorphismes en amont et les polymorphismes en aval, contenant la séquence codante (CDS) et sept introns.

Dans les tumeurs de la prostate, l'expression du *VEGF* est nettement augmentée chez les patients présentant un CaP histologiquement avancé et elle est corrélée avec la croissance et la propagation des cellules tumorales par activation du système vasculaire sanguin et lymphatique. La surexpression du *VEGF* a également été liée à l'agressivité tumorale et ça pourrait être utile pour le diagnostic précoce ainsi comme un facteur prédictif pour les récives et les métastases (Sakr *et al.*, 1997 ; Fukuda *et al.*, 2007).

Malgré cela, en Algérie, il n'existe pas d'études sur le polymorphisme -2578C/A et le PCa. De même, peu d'études dans le monde entier ont examiné l'influence des polymorphismes du *VEGF* sur le risque de cancer de la prostate, et les résultats ne sont pas cohérents et sont contradictoires.

Le variant -2578C/A du *VEGF* a été évalué dans plusieurs types de cancers avec des résultats intéressants (Howell *et al.*, 2002 ; Tzanakis *et al.*, 2006 ; Kawai *et al.*, 2007 ; Kong *et al.*, 2007 ; Nasr *et al.*, 2008 ; Schneider *et al.*, 2008).

Partie Pratique

1. Type d'étude

Il s'agit d'une étude transversale de type cas-témoins ayant comme principale visée la recherche d'éventuelles associations entre certains polymorphismes génétiques avec le cancer de la prostate.

Notre étude a été réalisée au niveau de trois structures : la clinique rénale de Daksi, le laboratoire de biologie et de génétique moléculaire du CHU Ibn Badis Constantine et au niveau du laboratoire de biologie moléculaire de la faculté sciences de la nature et de la vie de l'université frère Mentouri Constantine 1.

2. Patients et témoins

Notre étude a duré 2 ans et a porté sur deux populations :

- Une population de 150 patients, recrutée au niveau du service d'urologie de la clinique rénale (EHS) Daksi – Constantine.
- Une population de 150 témoins de sexe masculin volontaires recrutée d'une façon aléatoire.

2.1 Critères d'inclusion

- Patients : sujets présentant un cancer de la prostate.
- Témoins : sujets présumés sains, sans antécédents familiaux de maladie maligne et appariés aux malades, selon l'âge et la région.

2.2 Critères d'exclusion

- Patients ayant reçu une transfusion sanguine.
- Sont exclus de l'étude tous les patients présentant une HBP.

3. Recueil et analyse des données

L'établissement d'un questionnaire approprié accompagné d'un consentement éclairé pour chaque individu (Annexes 5, 6), afin de recueillir systématiquement les informations nécessaires, identifier l'implication de certains facteurs génétiques tels que la présence d'antécédents familiaux, les facteurs environnementaux comme le tabac, ainsi que le mode de vie de chaque patient. Pour avoir tous les renseignements cliniques individuels, une analyse des dossiers a également été effectuée.

4. Méthodes

4.1 Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin permet d'étudier l'ADN et plus précisément d'identifier l'anomalie moléculaire responsable du cancer de la prostate.

Les prélèvements de sang total ont été réalisés au niveau du pli du coude après pose d'un garrot. Ils sont réalisés dans des conditions stériles dans des tubes contenant de l'EDTA comme anticoagulant.

Le prélèvement a été fait dans deux tubes de 5 ml bien remplis afin de pouvoir en extraire une quantité d'ADN abondante.

4.1.1 Conservation des prélèvements

Normalement l'extraction d'ADN se fait sur du sang frais. Mais dans certains cas d'impossibilité technique, l'extraction est différée puis réalisée sur du sang stocké 1 à 2 jour à 25°C ou pendant 7 jours à + 4°C. L'extraction d'ADN peut aussi se faire sur du sang congelé, mais dans ce cas la cristallisation lors de la congélation suivie de décongélation provoque des cassures dans la molécule d'ADN.

4.2 Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN de cellules ou de tissus. Elle consiste à obtenir des acides nucléiques plus ou moins purs et plus ou moins concentrés adaptés aux différents tests génétiques pratiqués.

Les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN. Les autres sources cellulaires peuvent être des biopsies musculaires ou des biopsies de villosités chorales ou des cultures de cellules amniotiques (amniocytes, fibroblastes...).

Il existe plusieurs procédés d'extraction et de purification d'ADN, dans notre étude nous avons utilisé la technique au NaCl.

4.2.1 Méthode d'extraction au NaCl

- La lyse des globules rouges et préparation du culot de leucocytes.
- Lyse des leucocytes, dénaturation du complexe nucléoprotéique et libération de l'ADN par un tampon de lyse, une protéinase K et détergeant SDS (sodium dodecyle sulfate), respectivement.
- Extraction et purification de l'ADN par le NaCl.
- Précipitation de l'ADN par l'éthanol.
- Solubilisation de l'ADN purifié.

Le protocole détaillé est fourni en annexe 7.

4.3 Détermination de la pureté d'ADN

La pureté de l'ADN extrait est déterminée en calculant le rapport $R = \text{DO } 260 \text{ nm} / \text{DO } 280 \text{ nm}$.

Si :

- $1,6 < R < 2$: l'ADN est pur.
- $R < 1,6$: l'ADN est contaminé par les protéines,
- $R > 2$: l'ADN est contaminé par des ARN.

La pureté de l'ADN est essentielle pour une action efficace des enzymes de restriction utilisées par la suite. Dans le cas où l'ADN est contaminé, on n'aboutira pas à des résultats fiables dans les étapes suivantes de son analyse par PCR. Il est donc indispensable de procéder à la réextraction de la pelote afin d'obtenir la pureté souhaitée.

N.B : les ADN purs sont conservés à + 4°C jusqu'à leur utilisation.

Le tableau suivant résume les différentes conditions de conservation de l'ADN.

Tableau 1 : Conditions de conservation de l'ADN.

Température	Durée de la stabilité de la solution d'ADN
Ambiante	Quelques jours
+ 4°C	6 mois
-20 °C	1 an au minimum
- 80 °C	7 ans au minimum

4.4 Génotypage des polymorphismes prospectés

4.4.1 Génotypage du polymorphisme T3801C du *CYP1A1*

La méthode pratiquée est la PCR/digestion

4.4.1.1 PCR ou Réaction en chaîne de polymérase

La PCR est un outil fondamental de la biologie moléculaire. Elle permet à partir d'un fragment d'ADN, d'obtenir un grand nombre (plusieurs millions) de copies identiques de ce même fragment. Cette réaction est réalisée in vitro.

La PCR a été décrite pour la première fois par Karry Mullis en 1983 et publiée en 1985, ce qui a valu à Karry Mullis le prix Nobel de chimie en 1993.

- **Principe de la PCR**

La PCR est basée sur la capacité de l'ADN polymérase à synthétiser le brin complémentaire, d'un ADN servant de matrice, elle nécessite de connaître la séquence des régions qui délimitent l'ADN à amplifier. Cette séquence servira à synthétiser une amorce d'oligonucléotides complémentaires, afin d'initier le processus.

Cette amorce ou primer a une longueur de 17 à 30 bases, et dont la séquence est complémentaire à celle du brin à amplifier. L'association à l'ADN cible est suivie de l'élongation du brin complémentaire par une polymérase, aboutissant ainsi à la synthèse d'un ADN double brin.

La PCR consiste en une succession cyclique de 3 étapes sachant que l'ADN extrait du milieu biologique à étudier baigne dans un milieu réactionnel tamponné qui comprend tous les éléments indispensables :

Les précurseurs nucléotidiques (dATP, dCTP, dTTP, dGTP), le cation Mg^{++} indispensable au bon fonctionnement de l'enzyme et à l'incorporation correcte des précurseurs, de l'ADN polymérase et des amorces.

- **Première étape : dénaturation thermique**

Cette étape consiste à séparer par la chaleur les deux brins en rompant les liaisons hydrogènes. L'ADN double brin est chauffé à 94°C. Cette température est supérieure à la température de dénaturation (Température melting ou T_m) de l'ADN qui devient sous forme simple brin.

Ces brins servent de matrice au cours des cycles d'amplification.

- **Deuxième étape : hybridation des deux amorces ou annealing (sens et anti-sens)**

Le milieu réactionnel est amené à une température inférieure au T_m des amorces. Ce T_m est en fonction de la séquence et est en général de l'ordre de 45 à 70 °C. Les amorces en large excès, s'hybrident à tout l'ADN simple brin comportant la séquence complémentaire.

- **Troisième étape : élongation et extension des amorces par une ADN polymérase**

Une ADN polymérase (la taq polymérase) allonge les amorces en y incorporant les désoxyribonucléotides complémentaires de la séquence de la matrice à laquelle est hybridée et la synthèse s'effectue dans le sens 5'→3' à 72°C (température optimale).

A la fin de chaque cycle, on aura deux copies de la séquence d'ADN cible. Un nouveau cycle commencera par l'étape de dénaturation, suivie successivement des étapes d'hybridation et d'extension.

L'amplification est exponentielle selon la formule 2^n et n représente le nombre de cycles, par exemple une PCR de 30 cycles génère théoriquement 2 à la puissance 30 copies de cibles initialement présentes.

- **Préparation du milieu réactionnel (mix)**

Pour cette étape, les réactifs utilisés dans la PCR doivent d'abord être dilués selon la formule suivante : $C1 \times V1 = C2 \times V2$

Sachant que :

C1 : concentration initiale de chaque réactif (mentionnée sur le tube).

V1 : volume initial nécessaire à la dilution (inconnu).

C2 : concentration finale (mentionnée dans le protocole utilisé).

V2 : volume final (selon le nombre de tubes).

Donc :

$$V1 = C2 \times V2 / C1$$

Une fois que le volume initial (V1) est connu, le volume de l'eau distillée nécessaire pour la dilution de chaque réactif est calculé comme suit :

$$V2 - V1 = V_{\text{eau distillée}}$$

Le volume de chaque réactif est ensuite multiplié par le nombre de tubes (nombre d'individus), plus deux tubes (témoin négatif et positif).

L'amplification du variant allélique T3801C du *CYP1A1* nécessite les réactifs indiqués dans le tableau ci-dessous :

Tableau 2 : Composants du milieu réactionnel pour la PCR du gène *CYP1A1*.

Réactifs	Volumes nécessaires pour un échantillon (µl)
H2O	8,04
MgCl ₂ à 1,5 final (50mM)	0,6
Amorce sens (100 ng/µl)	2
Amorce anti-sens (100 ng/µl)	2
Tampon 10X	2
Taq DNA 5U/µl	0,16
dNTP 0,2 final	3,2
ADN 20 à 50 ng/µl	2
Total	20

Tableau 3 : Séquences d'amorces sens (F) et anti sens (R) utilisées lors de la PCR du gène *CYP1A1*.

Amorce	Séquences (5'→3')	Taille du fragment amplifié (pb)
CYP1A1 (F)	5'-GGCTGAGCAATCTGACCCTA-3'	340
CYP1A1 (R)	5'-TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT-3'	

Pour chaque individu, 2µl d'ADN dilué sont mélangés à 18µl du mix dans un tube à PCR.

- **Déroulement des cycles de la PCR**

Les tubes de PCR préparés sont posés dans le thermocycleur programmé au préalable. Les conditions pour le déroulement des cycles d'amplification par PCR sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4 : Programmation des cycles de la PCR du gène *CYP1A1*.

Nombre de cycles	Étape	Température (°C)	Durée
1	Dénaturation initiale	94	4 min
37	Dénaturation	94	30 sec
	Hybridation	61	30 sec
	Élongation	72	30 sec

- **Contrôle de la PCR**

La qualité des produits de PCR obtenus est contrôlée par une électrophorèse. Cette méthode permet la séparation de particules chargées sous l'action d'un champ électrique uniforme. La migration d'une molécule d'ADN dépend de sa taille et de la concentration du gel d'agarose, mais le voltage et la force ionique du tampon interviennent également.

Dans notre étude, le gel d'agarose à 2% (2g d'agarose+ 100 ml de TBE 1X (Tris Borate EDTA)) dans lequel a été incorporé 10µl de l'intercalant BET (Bromure d'Éthidium). Ce dernier se fixe entre les bases nucléiques, rendant l'ADN fluorescent sous UV pour visualiser les bandes résultantes.

Dans chaque puits du gel et du côté cathode (-), un mélange de 7µl du produit d'amplification et 3µl du marqueur de mobilité BBP (Bleu de Bromo Phénol) est déposé en réservant 3 puits, un pour le dépôt du marqueur de taille (pour le contrôle de taille des fragments amplifiés), le deuxième pour le dépôt du blanc (témoin négatif) et le dernier pour le contrôle positif. Ce dernier, sert à détecter si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR. Ensuite, le système est soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 30 min.

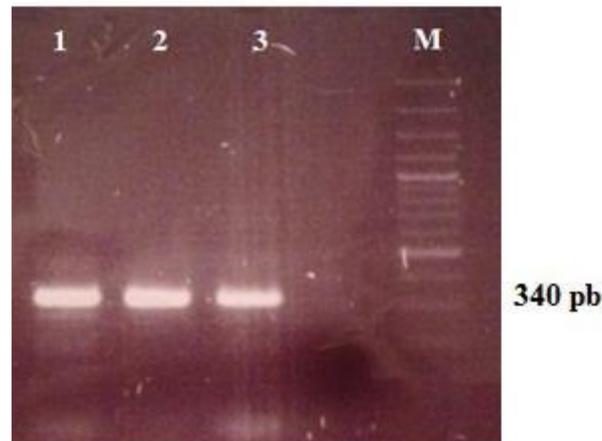


Figure 27 : Profil électro-phorétique de la PCR du T3801C du *CYP1A1*.
1-3 : sujets ; M : marqueur de taille.

4.4.1.2 Digestion des produits de PCR par l'endonucléase de restriction *MspI*

L'ADN est soumis à une digestion enzymatique clivant la molécule à des endroits précis appelés sites de restriction. Dans notre étude, 10µl d'ADN sont mélangés à 0,5µl d'enzyme de restriction *MspI*. L'ensemble, est ensuite incubé à 37°C environ 7h.

La mutation T3801C du *CYP1A1* crée un site de reconnaissance pour l'enzyme de restriction *MspI*. L'action de clivage de cette enzyme est détectée par une variation du nombre et de la longueur des fragments de restriction obtenus après une digestion enzymatique.



Figure 28 : Site de restriction de l'enzyme *MspI*.

- Contrôle de la digestion

La migration et la visualisation des fragments de restriction obtenus ont été effectuées dans les mêmes conditions que celles des produits PCR. Cependant, la petite taille de ces fragments, a nécessité la préparation d'un gel d'agarose plus résolutif à 4% (4g d'agarose avec 100ml de TBE à 1X).

Dans chaque puits du gel, 10µl du produit digéré et 3µl de BBP sont déposés. La migration s'effectue sous un courant de 100 volts pendant 45min. Les fragments résultants sont ensuite visualisés sous UV.

4.4.2 Génotypage du *GSTM1* et *GSTT1*

Pour la mise en évidence du génotypage des polymorphismes *GSTM1* et *GSTT1*, nous avons réalisé une PCR multiplexe.

La PCR multiplexe (M-PCR) est une variante de la PCR conventionnelle. Son principe de base, qui contrairement à la PCR classique, implique l'amplification de plusieurs séquences cibles simultanément en utilisant des paires multiple d'amorces dans le mélange réactionnel. La PCR multiplexe plus rapide et plus économique, a une spécificité et une sensibilité similaires à celles de la PCR simplexe.

Dans notre étude, les délétions des gènes *GSTM1* et *GSTT1* ont été analysées par PCR multiplexe. Le gène de la β -globine a été utilisé comme témoin interne, pour confirmer le bon déroulement de la réaction de PCR et pour s'assurer que l'absence d'amplification des *GSTM1/GSTT1-nul* était due à une délétion de ces derniers et non à l'échec de la PCR.

Nous avons préparé le milieu réactionnel contenant les différents réactifs nécessaires à la réalisation de la PCR multiplexe :

Tableau 5 : Composition du milieu réactionnel de la PCR multiplexe.

Réactifs	Volumes nécessaires pour un échantillon (20 μ l)
H2O	0,04
MgCl ₂ à 1,5 final (50mM)	0,6
Amorce sens <i>GSTM1</i> (100 ng/ μ l)	2
Amorce anti-sens <i>GSTM1</i> (100 ng/ μ l)	2
Amorce sens <i>GSTT1</i> (100 ng/ μ l)	2
Amorce anti- sens <i>GSTT1</i> (100 ng/ μ l)	2
Amorce sens β -globine (100 ng/ μ l)	2
Amorce anti-sens β -globine (100 ng/ μ l)	2
Tampon 10X	2
Taq DNA 5U/ μ l	0,16
dNTP 0,2 final	3,2
DNA 20 à 50 ng/ μ l	2

Tableau 6 : Séquences d'amorces sens (F) et anti sens (R) utilisées des gènes *GSTM1* et *GSTT1*.

Amorces	Séquences (5'→3')	Taille du fragment amplifié
GSTM1 (F)	5' -GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3'	230 pb
GSTM1 (R)	5' -GTTGGGCTCAAATATACGGTGG-3'	
GSTT1 (F)	5' -TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3'	480 pb
GSTT1 (R)	5' -TCACCGGATCATGGCCACCA-3'	
<i>β</i>-globine (F)	5' -ACA CAA CTG TGT TCA CTA GC--3'	110 pb
<i>β</i>-globine (R)	5' -CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3'	

Pour chaque individu, 2µl d'ADN dilué sont mélangés à 18µl du mix dans un tube à PCR. Les tubes de PCR contenant les différents réactifs ainsi préparés, sont déposés dans un thermocycleur et le déroulement des cycles de PCR est conditionné comme suit :

Tableau 7 : Programmation des cycles de PCR multiplexe.

Nombre de cycles	Étape	Température (°C)	Durée
1	Dénaturation initiale	94	4 min
37	Dénaturation	94	1 min
	Hybridation	61	1 min
	Élongation	72	1 min
1	Élongation finale	72	10 min

La migration des produits de PCR colorés au BBP se fait sur un gel d'agarose à 3% préparé avec du BET. La migration se fait sous un courant à 100V pendant 45 min et en présence du marqueur de taille de 100 pb. Après migration, le gel est soumis aux rayons UV ce qui permet la visualisation des produits de PCR amplifiés.

4.4.3 Génotypage du polymorphisme -2578C/A du *VEGF*

Le génotypage du variant allélique -2578C/A du *VEGF* a été réalisé par une PCR/RFLP en utilisant l'enzyme de restriction *Bst*I.

Plusieurs étapes successives sont nécessaires afin d'obtenir le profil de la digestion :

- PCR et contrôle de PCR sur gel d'agarose.
- digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction *Bst*I.
- séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur gel d'agarose.
- visualisation des produits de digestion par trans-illumination sous UV.

Avant de procéder à notre PCR, nous avons préparés un mix de PCR.

Tableau 8 : Composants du milieu réactionnel pour la PCR du gène *VEGF*.

Réactifs	Volumes nécessaires pour un échantillon (µl)
H2O	8,04
MgCl ₂ à 1,5 final (50mM)	0,6
Amorce sens (100 ng/µl)	2
Amorce anti-sens (100 ng/µl)	2
Tampon 10X	2
Taq DNA 5U/µl	0,16
dNTP 0,2 final	3,2
DNA 20 à 50 ng/µl	2

Tableau 9 : Séquences d’amorces sens (F) et anti sens (R) pour le gène *VEGF*.

Amorce	Séquences (5’→3’)	Taille du fragment amplifié
<i>VEGF</i> (F)	5'- GGCCTTAGGACACCATACC-3'	455 pb
<i>VEGF</i> (R)	5'-CACAGCTTCTCCCCTATCC-3'	

Après avoir préparé le mix de la PCR, nous avons pris 18 µl de ce mélange avec 2 µl d’ADN pour chaque tube. Ensuite le déroulement des cycles de la PCR a été assuré par le thermocycleur et les conditions d’amplification étaient comme suit :

Tableau 10 : Programmation des cycles de la PCR du gène *VEGF*.

Nombre de cycles	Étape	Température (°C)	Durée
1	Dénaturation initiale	94	4 min
37	Dénaturation	94	30 sec
	Hybridation	61	30 sec
	Élongation	72	30 sec

Le contrôle est assuré par une électrophorèse sur gel d’agarose à 2% sur une cuve horizontale. Le gel a été préparé en mélangeant 2g de poudre d’agarose avec 100ml du TBE 1X auquel nous avons ajouté 10 µl de BET pour la visualisation aux UV.

Dans chaque puits du gel, la quantité de 10µl du produit de PCR mélangée à 3µl de Bleu de Bromophénol a été déposée. Ce dernier, permet de suivre le front de migration.

NB : Dans le dernier puits, nous avons déposé 5µl de marqueur de taille de 100 pb qui nous a aidé à estimer la taille des fragments.

Après migration des fragments sur le gel et exposition de ce dernier sous UV, les fragments amplifiés sont visualisés sous forme de bandes fluorescentes.

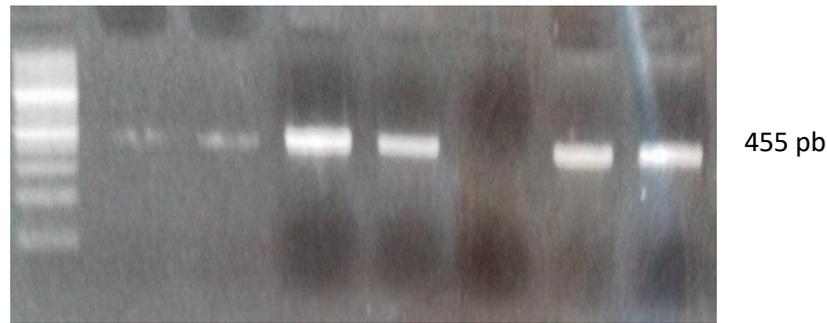


Figure 29 : Profil électro-phorétique de la PCR du gène *VEGF*.

Les produits de la PCR sont soumis à une digestion enzymatique par l'enzyme de restriction *Bst**I*. Toute modification génique à leurs niveaux pourrait entraîner ou empêcher l'action de l'enzyme. Ces modifications de l'ADN sont détectées par des variations du nombre de la longueur des fragments de restriction obtenus après digestion enzymatique.

Nous mélangeons 10µl de produit de PCR avec 0,5µl d'enzyme de restriction. Le tout est incubé pendant une nuit dans une étuve réglée à 37°C.

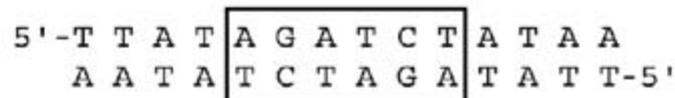


Figure 30 : Site de restriction de l'enzyme *Bst**I*.

Les fragments d'ADN digérés par l'enzyme de restriction sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose 3% (3g d'agarose + 100ml du TBE1X).

Dans chaque puits du gel, 10µl du produit de digestion et 3µl de BBP sont déposés. La migration s'effectue sous un courant de 100 volts pendant 45min. Les fragments résultants sont ensuite visualisés sous UV.

4.5 Analyse statistique

Les résultats statistiques de tous les paramètres étudiés chez les patients recrutés ont été traités par le logiciel Python (version 3.6) et par le programme R (version 3.2.3). Différentes méthodes, ainsi que différents tests ont été utilisés afin de déterminer la présence ou l'absence d'une association significative entre les polymorphismes (T3801C du *CYP1A1*, *GSTM1*, *GSTT1* et -2578C/A du *VEGF*) et le cancer de la prostate : ceci se fait par la comparaison du nombre de fois où l'allèle est observé chez les patients par rapport au nombre de fois où il est présent chez les témoins. Une régression logistique a été utilisée pour déterminer s'il y a une corrélation entre les génotypes et les différents stades cliniques et les grades pathologiques du CaP. Le

rapport de cotes (OR) et son intervalle de confiance (IC) à 95 % ont été utilisés pour illustrer l'association, $p < 0,05$ étant considéré statistiquement significative dans tous les tests.

4.5.1 Calcul de l'odds ratio

L'odds ratio (OR) est utilisé dans les enquêtes de cohorte et dans les enquêtes de type cas/témoins marquées par impossibilité de mesurer les risques de la maladie chez les sujets exposés et les non-exposés ; dans ces situations, l'OR est une bonne approximation du risque relatif. Pour calculer l'OR nous avons établi le tableau de contingence suivant :

Tableau 11 : Tableau de contingence.

	Patients	Témoins	Total
Exposé	a	b	a+b
Non exposé	c	d	c+d
Total	a+c	b+d	a+b+c+d

Afin de mesurer l'association entre un facteur et une pathologie, l'odds ratio est calculé comme suit :

$$\text{OR} = a*d / b*c$$

Si :

OR = 1 : pas d'association entre l'exposition et la maladie.

OR < 1 : association négative.

OR > 1 : association positive.

4.5.2 Intervalle de confiance

L'intervalle de confiance, ou IC, indique le degré de certitude des résultats de la recherche. Il identifie une fourchette de valeurs, situées de part et d'autre de l'estimation, et où l'on peut être sûr à 95% de trouver la valeur réelle. Les deux valeurs qui définissent l'intervalle s'appellent les limites de confiance.

L'utilisation d'un pourcentage fixé à 95% est une convention arbitraire. Certains auteurs utilisent des IC à 90 ou 99%.

4.5.3 Choix de la *p-value*

Le seuil critique a priori est de 0,05. Le calcul de la *p-value* nous permet d'avoir des informations sur le degré de significativité des différences de fréquence de chaque allèle entre patientes et témoins. Cette évaluation correspond à la probabilité que l'écart global soit imputable seulement aux fluctuations du hasard. Lorsque la probabilité p est égale ou inférieure à 0,05 (5%), il y a moins 5 chances sur 100 que la distribution résulte du hasard. Ainsi la

différence de distribution entre les populations de malades et des témoins pour un marqueur donné, est statistiquement significative et le marqueur génétique étudié, dans ce contexte, peut être considérée comme étant associé.

4.5.4 Régression logistique

La régression logistique est l'un des modèles d'analyse multivariée les plus couramment utilisés en épidémiologie. Elle permet de mesurer l'association entre la survenue d'un évènement et les facteurs susceptibles de l'influencer. Ainsi c'est une technique prédictive. Elle vise à construire un modèle dont l'intérêt majeur est de quantifier la force de l'association entre chaque variable indépendante et dépendante, en tenant compte de l'effet des autres variables intégrées dans le modèle.

Résultats et discussion

Dans la partie bibliographique, nous avons vu que le cancer de la prostate se caractérise par des facteurs de risque pouvant augmenter la probabilité de sa survenue.

Dans le contexte d'approfondir nos connaissances sur l'étiologie du CaP, nous avons réalisé d'une part une étude statistique transversale afin de déterminer l'implication de certains facteurs de risque comme l'âge, le statut tabagique, des critères familiaux, professionnels, cliniques et biologiques dans le développement du cancer de la prostate chez les 150 patients recrutés. D'autre part, une étude transversale de type cas-témoins a été également effectuée pour prospecter d'éventuelles relations entre les délétions des gènes *GSTMI* et *GSTT1* dans l'apparition et le développement de ce type de cancer. Nous avons parallèlement essayé d'évaluer les profils génotypiques et alléliques des polymorphismes T3801C du gène *CYP1A1* et -2578C/A du *VEGF* et le cancer de la prostate. Puis, nous avons cherché s'il y a des associations entre les gènes étudiés et les caractéristiques clinico-pathologiques du cancer de la prostate.

1. Etude descriptive des patients

1.1 Age

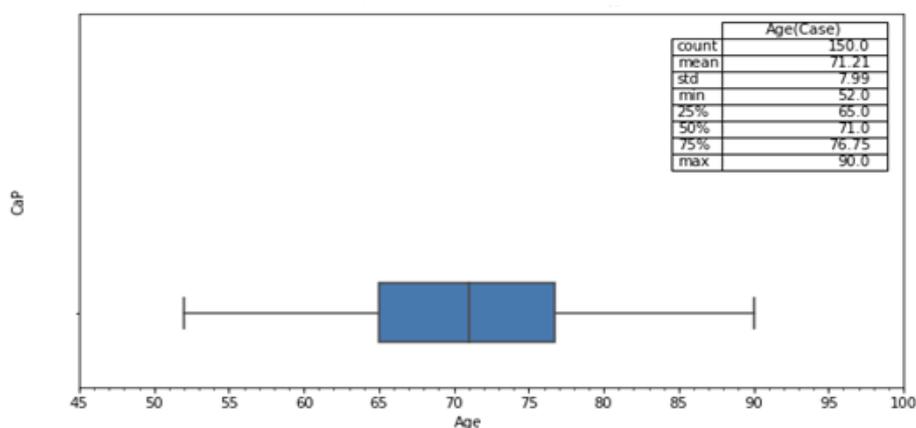


Figure 31 : Histogramme de la moyenne d'âge des malades.

La moyenne d'âge de la population étudiée est estimée à $71,21 \pm 7,99$, avec des extrêmes allant de 52 à 90 ans avec une prédominance de survenue du cancer dans la tranche d'âge [70-75 ans]. Cette répartition en tranche d'âge montre que le CaP survient à partir de l'âge de 50 ans ; sa fréquence augmente avec l'avancement de l'âge et devient représentative à partir de l'âge de 60 ans. Ceci peut être expliqué par le retard de diagnostic du CaP, une absence de symptomatologie dans ses stades précoces et aussi par son évolution lente.

Nos résultats se rapprochent de ceux de Hamdi Cherif et al. (2015) indiquant un âge médian au moment du diagnostic de 71 ans dans la population algérienne. Presque les mêmes résultats ont été rapportés dans les registres des cancers de différents pays africains. Au Maroc, les études réalisées par Maamri (2012) montrent que le CaP arrive en quatrième position avec une moyenne d'âge de 70 ans. La série de Khiari et al. (2011) en Tunisie indique que l'âge moyen est d'environ 67 ans. Par ailleurs, Tengue et al. (2015) montre que l'âge moyen de la population togolaise est de 77 ans.

En France, l'âge moyen est de 71 ans. Ce résultat a été prouvé par Guisiano-Courcambeck (2012) et Defossez et al. (2019) qui explique également une apparition tardive du CaP avec une très faible fréquence avant l'âge de 50 ans et qui augmente avec l'âge. Par conséquent, plus de 69% des CaP surviennent après 65 ans. De plus, dans la population américaine ce résultat a été confirmé par Heaney et al. (2009) qui ont rapporté que le risque de contracter le CaP est de 10% pour les hommes qui ont atteint l'âge de 50 ans ; et le pourcentage augmente jusqu'à 70% au-delà de l'âge de 80 ans.

En revanche, nos résultats diffèrent de ceux de Lattouf et Fred (2007), Ploussard (2011) et Ebnöther et Hablützel (2014) indiquant que le risque d'avoir un CaP devient significatif vers l'âge de 50 ans pour plus de 50% des hommes.

1.2 Statut tabagique

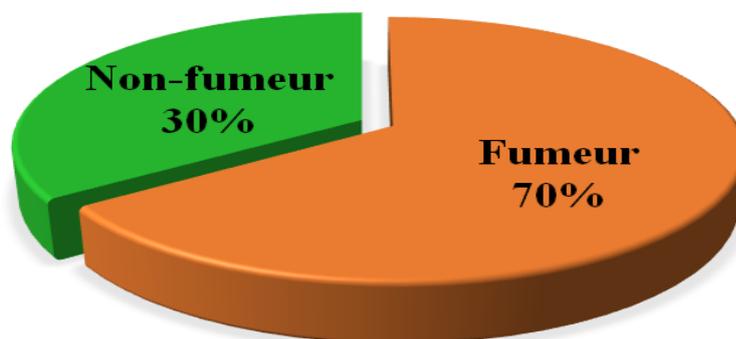


Figure 32 : Fréquences des fumeurs et non-fumeurs.

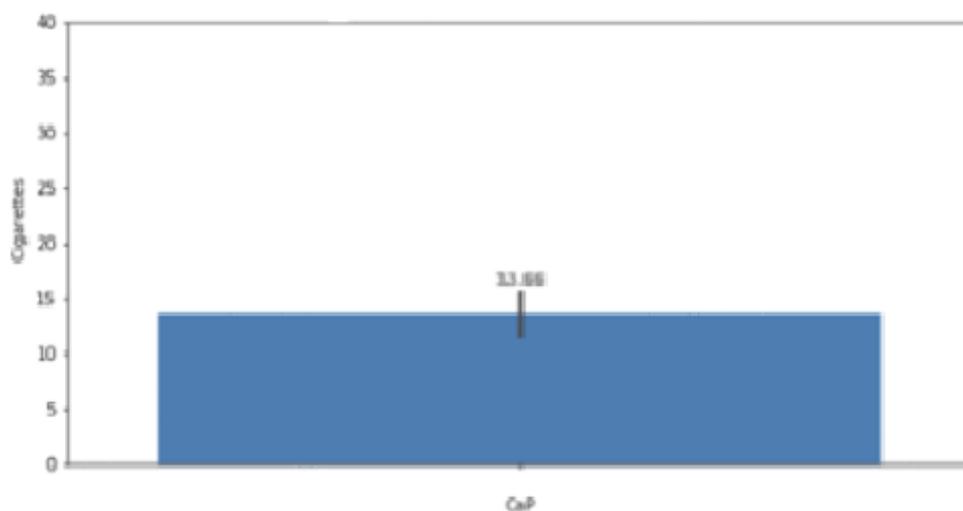


Figure 33 : Moyenne de consommation des cigarettes.

Selon le statut tabagique, il existe une forte association entre le CaP et la consommation du tabac où la fréquence des patients fumeurs est de 70% et celle des patients non-fumeurs représente 30%.

Par contre, selon l'étude cas-témoin, les valeurs de l'odds-ratio et de la *p-value* obtenues ($p = 0,39$, OR 1,20/IC [0,76-2]) indiquent une association négative entre le CaP et le tabagisme (Tableau 12).

Tableau 12 : Association entre le statut tabagique et le CaP.

	Patients	Témoins	OR/IC	<i>p-value</i>
Non-Fumeur	45	52	1	
Fumeur	105	98	1,20 [0,76 - 2]	0,39
Total	150	150		

Le tabagisme est un facteur de risque important pour de nombreux cancers, mais la relation entre le tabagisme et le cancer de la prostate reste incertaine. Il est possible que la taille de notre échantillon (petite) soit insuffisante pour détecter un effet entre la consommation du tabac le CaP.

Les données de plusieurs études suggèrent que le tabagisme est susceptible d'être un facteur de risque pour la progression de cancer de la prostate avec un risque élevé de manière significative allant de 2 à 3 fois ou plus. Ainsi il est associé à une augmentation modérée à peu-près 30% du risque de mortalité comparativement aux non-fumeurs (Batty *et al.*, 2008 ; Joanne *et al.*, 2009 ; Zu et Giovannucci, 2009).

Il y a un certain nombre de mécanismes biologiquement plausibles par lesquels le tabagisme pourrait hostilement influencer le développement et la progression du CaP, y compris les effets directs de substances cancérigènes dans la fumée de tabac, telles que le cadmium, les HAPs et les nitrosamines, qui pourraient affecter le développement de tumeur de la prostate. Il a aussi été suggéré que l'exposition à ces substances cancérigènes pourrait causer des tumeurs plus agressives via les mutations des gènes comme *p53* (Hickey *et al.*, 2001 ; Hecht *et al.*, 2006 ; Anetor *et al.*, 2008 ; Joanne *et al.*, 2009).

Des facteurs hormonaux importants peuvent aussi être influencés par le tabac, des études ont montré que les fumeurs ont des niveaux élevés de testostérone circulants, androstenedione et de dihydrotestostérone comparés avec les non-fumeurs (Renehan *et al.*, 2004 ; Renehan *et al.*, 2004 ; Roddam *et al.*, 2008).

La méta-analyse de Huncharek *et al.* (2010) a révélé une augmentation statistiquement significative du tabagisme et l'incidence/ la mortalité du cancer de la prostate. Le fait de fumer pourrait engendrer un développement plus agressif des cancers hormono-dépendants à travers différents mécanismes incluant les effets sur le taux d'hormones stéroïdiennes, les mutations sur les gènes suppresseurs de tumeur et l'exposition aux substances carcinogènes présentes dans la fumée de tabac. Ainsi, le mode de vie différent des fumeurs comme l'activité physique et le mode d'alimentation pourraient être des facteurs confondants (Leitzmann et Rohrmann, 2012). Les résultats obtenus par Riekema *et al.* (2015) indiquent que la fumée de tabac est associée à un risque très élevé de CaP, surtout lorsque la consommation de tabac est étalée sur une période de plus de dix ans. Néanmoins, le risque de cancer dépend de la dose de tabac fumé, de l'ancienneté et de l'âge du début du tabagisme ainsi que du mode de vie stressant (Wirth *et al.*, 2009). Des chercheurs australiens, suisses, espagnols, jordaniens, japonais et américains ont réalisé une méta-analyse avec 11 études et 22549 patients atteints d'un cancer de la prostate (4202 étaient des fumeurs actifs, 8347 étant catégorisés non-fumeurs (soit anciens fumeurs, soit n'ayant jamais fumé)) et ayant subi une prostatectomie ou de la radiothérapie. Les résultats de l'étude ont montré que les fumeurs développent un risque élevé de multiplier de nouvelles métastases et de décéder suites à leur cancer. Ainsi, Les fumeurs affichent un risque de récurrence moins élevé lorsqu'ils s'arrêtaient de fumer après l'annonce de la maladie. (Foerster *et al.*, 2018).

1.3 Antécédents familiaux

L'établissement des arbres généalogiques nous a permis de classer nos patients selon la présence d'antécédents familiaux (Tableau 13).

Tableau 13 : Répartition des patients selon la présence d'antécédents familiaux.

Antécédents familiaux	patients	
	n	%
Absence	121	80,67
Présence	29	19,33
Total	150	100

Parmi les 150 patients recrutés, 80,67% (121 cas) n'ont aucun antécédent familial. Cependant nous comptons 29 patients (19,33%) présentant une histoire familiale de cancer de la prostate. Parmi les 29 patients 20 soit (13,33%) avaient des antécédents familiaux du premier degré (père ou frères). Ainsi 9 cas soit (6%) avaient des antécédents familiaux du deuxième degré (grand père, oncle).

Nos données montrent d'une part, que la forme sporadique du CaP est la plus répandue et que la forme familiale est moins fréquente. La présence des antécédents familiaux augmente le risque d'atteinte ce qui a été confirmé par Jhon et al. (2008) qui ont démontré qu'une prédisposition familiale est évoquée quand le lien de parenté est très proche, c'est-à-dire du premier degré. Ces critères doivent être étendus aux apparentés du deuxième degré du côté maternel afin d'inclure les cas de transmission liée au chromosome X (Heaney *et al.*, 2009).

Ces observations sont largement confirmées par les données de Cornu et al. (2011), Warnier (2013), Cussenot et Cancel-Tassin (2015) et Salmi et Jouhadi (2018) notant que 80% des CaPs sont sporadiques, 10 à 15% des cas surviennent dans un contexte d'antécédents familiaux et 5% des CaPs sont héréditaires.

D'autre part, l'existence d'un seul cas du CaP dans une famille, peut prédisposer ses hommes, notamment ceux du premier degré ayant plus de 60 ans à ce cancer. Nos résultats divergent de ceux obtenus par Madersbacher et al. (2010), Cornu et al. (2011), Giusiano-Courcambeck et al. (2012) et Sauve et al. (2016), publiant que la forme familiale du CaP consiste en la présence de deux cas dans la même famille quel que soit l'âge du diagnostic.

1.4 Profession

La répartition des patients selon la profession est établie ci-dessous

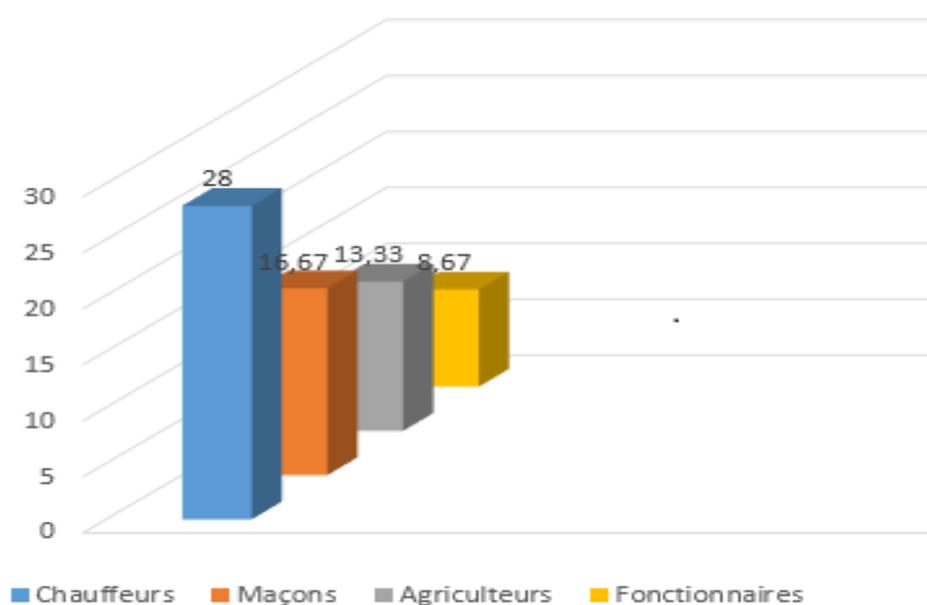


Figure 34 : Répartition des patients selon la profession.

La distribution des patients selon les différentes professions, montre une dominance du CaP chez les chauffeurs routiers avec une fréquence de 28% (soit 42 patients).

Cette observation est cohérente avec les résultats de Jarvholm et Solverman (2003), Lemasters et al. (2006), Jones et al. (2014) et Mayton et al. (2014) enregistrant un risque accru de CaP chez les chauffeurs routiers ; dû à leur exposition au gaz d'échappement diesel contenant les HAPs. Young et al. (2009), Nadalin et al. (2012), Sun et al. (2013) et Blanc-Lapierre et al. (2017) ont également tiré une autre cause du CaP agressif chez les chauffeurs routiers (particulièrement les conducteurs des camions parcourant les longs trajets), il s'agit du WBV (Whole-Body Vibration) ou la vibration du corps entier stimulant la sécrétion de la testostérone, rendant ainsi, le CaP quatre fois plus agressif. En outre, Sass Kortsak et al. (2007), Orsini et al. (2009), Wong et al. (2014), Sauve et al. (2016), Sritharan et al. (2016), Varela-Mato et al. (2016), ont trouvé que les longues périodes de sédentarité ou en position assise des chauffeurs routiers augmente le risque du CaP, car le siège comprime la région pelvienne et les organes environnants. Au fil du temps, cette accumulation de pression, provoque une perturbation et un dysfonctionnement du métabolisme de ces chauffeurs, ce qui conduit à un cancer prostatique et plusieurs autres cancers urologiques.

Des méta-analyses réalisées dans ce contexte suggèrent que le travail de nuit et le travail en rotation sont associés à un risque de cancer de la prostate (Parent *et al.*, 2012 ; Rao *et al.*, 2015 ; Gan *et al.*, 2018).

Le graphique indique également que les maçons-peintres occupent la deuxième position avec une fréquence de 16,67% (25 patients) ; cela explique l'implication des composés CMR (Cancérogènes Mutagènes Reprotoxiques) tels que le toluène, le formaldéhyde et l'éthylbenzène contenus dans les outils de peinture dans la survenue du CaP et plusieurs autres types de cancer (Bertrand et Clerc, 2011). Nos résultats sont compatibles avec les données de Ramanakumar *et al.* (2008) confirmant que les peintres ont un risque de développer un CaP.

Les agriculteurs (13,33%, soit 20 patients) viennent en troisième position et les fonctionnaires (08,67% soit 13 patients) viennent en quatrième position, et les deux professions semblent participer à l'apparition de CaP. Ces résultats sont compatibles avec l'étude de Sharma-Wagner *et al.* (2000), Ndong *et al.* (2009), Parent *et al.* (2009), Ragin *et al.* (2013) et Singier (2014) qui prouvent que les agriculteurs ont un risque de développer des CaP en raison de leur exposition à des produits chimiques mutagènes et les pesticides qui sont les principaux composants responsables de la cancérogenèse. De plus, certaines études sur l'agriculture ont révélé des associations chez des hommes ayant des antécédents familiaux de cancer de la prostate et l'exposition à certains pesticides (Mahajan *et al.*, 2006 ; Christensen *et al.*, 2010). De même, l'étude de Florentina *et al.* (2017) semble indiquer que le cancer de la prostate pourrait être 2 ou 3 plus fréquent chez les agriculteurs. Tout comme les chauffeurs routiers, la position assise prolongée des fonctionnaires et le stress en milieu professionnelle semblent être associés au CaP.

Les autres professions viennent en dernier lieu.

1.5 Paramètres biologiques et cliniques

A partir des 150 comptes rendus, nos patients ont été classés selon trois principaux critères : le taux de PSA total, le score de Gleason et la classification TNM.

1.5.1 Taux de PSA total

Les résultats du dosage du PSA total sont rapportés ci-dessous (Tableau 14).

Tableau 14 : Répartition des patients selon le taux de PSA total.

Taux de PSA total	n	%
PSA \leq 10	12	08,00
10 < PSA < 50	58	38,67
PSA \geq 50	80	53,33

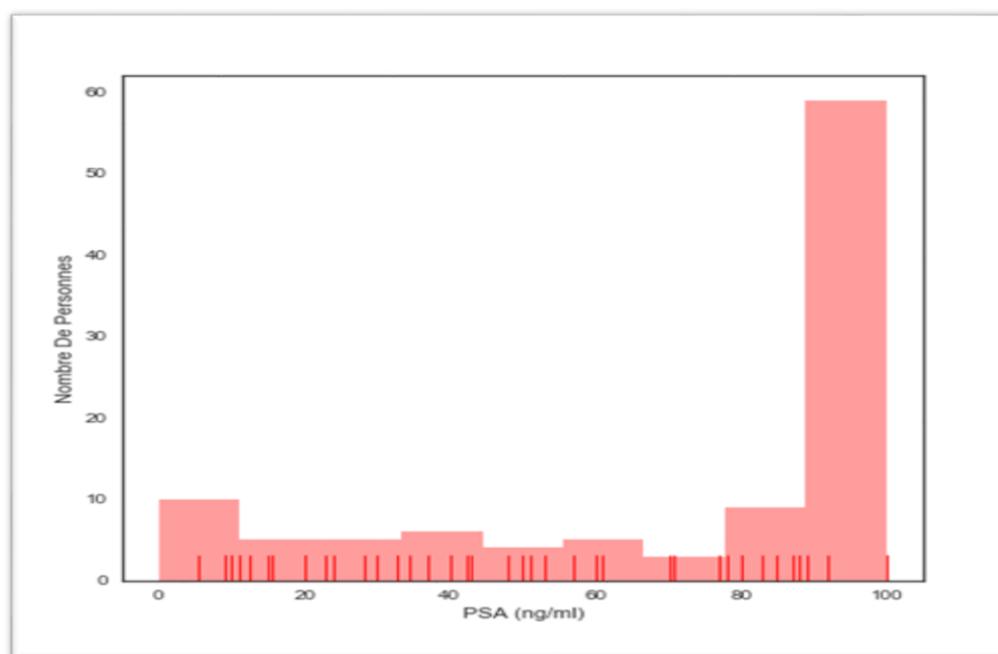


Figure 35 : Répartition des patients selon les valeurs du PSA.

Dans notre population d'étude, 80 patients (53,33%) présentent une élévation très importante des taux de PSA total (PSA \geq 50ng/ml), 58 patients (38,67%) ont des taux de PSA total variant entre 10 et 50 ng/ml et 12 patients (8%) ont des taux de PSA total inférieurs à 10 ng/ml.

Rappelons que le PSA est un examen d'orientation, nos résultats indiquent que la grande majorité de la population malade a des taux de PSA total élevés (PSA total > 50). Nos résultats sont proches de ceux de Fane (2009) qui a trouvé un pourcentage de 56,52%; et sont inférieurs de ceux de Traoré (2008) et Samake (2013) et qui ont trouvé respectivement, des fréquences 94.11% et 80%. Mcclure et ses collaborateurs (2018) publient également que la grande majorité des hommes présentant des taux élevés de PSA >30 ng/mL ont un cancer de la prostate.

De ce fait, plus le taux de PSA est élevé, plus la tumeur est agressive. Nos résultats du taux total de PSA convergent avec ceux de Jagla (2007), Egrot (2010), Labouret (2011), Viennois (2011),

Sine et al. (2016), Ahlmine (2017) et Descotes et al. (2019) qui ont publié que le niveau élevé de PSA témoigne l'agressivité du CaP en clivant les composants de la membrane basale, ce qui facilite également l'invasion des cellules tumorales et la formation de métastases.

Néanmoins, nos constatations sont différentes de celles de Gauchez (2011) et Warnier (2013) notant que le PSA est associé à de nombreux faux positifs (augmentation du PSA dans les prostatites, les HBP, TR...) et de faux négatifs. De plus, d'autres facteurs influencent l'augmentation du taux de PSA total (l'âge, la masse corporelle, l'origine ethnique, les infections, HBP), la raison pour laquelle, seule l'analyse anatomopathologique de biopsie prostatique permet d'établir avec certitude le diagnostic du CaP.

1.5.2 Le Score de Gleason

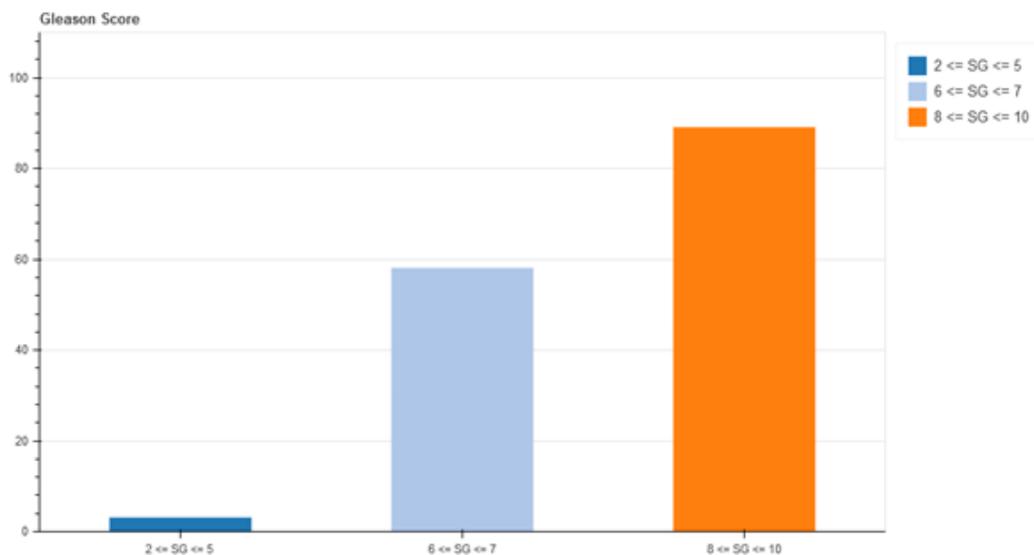


Figure 36 : Répartition des patients selon le Score de Gleason.

Pour évaluer l'agressivité des cellules cancéreuses prostatiques, le score de Gleason a été mentionné dans les comptes rendus d'anatomopathologie (Tableau 15).

Tableau 15 : Répartition des malades selon le score de Gleason.

Score de Gleason	n	%
$2 \leq SG \leq 5$	03	02,00
$6 \leq SG \leq 7$	58	38,67
$8 \leq SG \leq 10$	89	59,33
Total	150	100

Dans notre étude, les adénocarcinomes peu ou pas différenciés et agressifs ($8 \leq SG \leq 10$) sont majoritaires, ils représentent 59,33%, alors que les adénocarcinomes moyennement différenciés à agressivité intermédiaire représentent 38,67%, alors que les adénocarcinomes peu agressifs et bien différenciés ($2 \leq SG \leq 5$) ne sont diagnostiqués que chez 2% de la population d'étude.

Plus le score de Gleason est élevé, plus l'activité proliférative de la tumeur est importante et plus le taux de PSA augmente. Nos données sont en accord avec ceux de Dana et Foult (2010), Labouret (2011), Salomon (2014), Konan et al. (2015) et Ahalmine (2017) montrant une corrélation entre un taux de PSA supérieur à 10 ng/ml qui se traduit par une manifestation de tumeurs prostatiques à risque intermédiaire ou à haut risque.

1.5.3 La classification TNM

Afin de déterminer l'extension tumorale, les tumeurs ont été précisées à l'aide de la classification TNM (Tableau 16).

Tableau 16 : Répartition des patients selon la classification TNM.

Classification TNM	n	%
T1+T2	66	44
M1	84	56

Selon le stade clinique, nous avons noté que les stades T1 et T2 représentent 44%. Ainsi, nos résultats montrent que la majorité des patients atteints d'un cancer de la prostate ont une scintigraphie osseuse positive avec un pourcentage de 56%. Similairement, Botto et al. (2007) et Tengue et al. (2016) ont retrouvé des métastases chez 69,20% et 75,9% des patients, respectivement.

L'association des critères biologiques et cliniques cités ci-dessus, a permis de mettre en évidence que sur les 150 patients, la grande majorité des tumeurs prostatique sont non localisé et agressives. Cette agressivité se traduit par le fait que le CaP est une pathologie silencieuse et une fois diagnostiquée, elle est à un stade avancé.

Nos constatations sont confirmées par Ergot (2010) indiquant que le CaP correspond à une transformation maligne des cellules prostatiques à évolution lente s'étalant sur plusieurs années.

2. Etude moléculaire

Au cours des dernières années, de nombreuses études ont mis en évidence le rôle des polymorphismes des gènes codant pour les enzymes de détoxification des substances exogènes dans la susceptibilité individuelle au risque de cancer. Parmi celles-ci, certaines ont démontré la contribution de ces polymorphismes dans la susceptibilité au cancer de la prostate.

Dans notre travail, nous avons étudié la répartition des polymorphismes des gènes *CYP1A1*, *GSTM1* et *GSTT1* codant pour les enzymes de cytochrome P450 et Glutathion S transférase intervenant dans la phase I et II de détoxification, chez une population algérienne de malades ayant un cancer de la prostate, comparée à une population témoin saine. Nous avons également testé l'existence d'éventuelle association entre ces polymorphismes, la consommation de tabac et le risque de développement du cancer prostatique. Ainsi, nous avons prospecté l'implication du polymorphisme -2578C/A du *VEGF* dans la susceptibilité au cancer de la prostate.

2.1 Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* chez les patients et les témoins

Dans cette partie, nous avons étudié le polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* afin d'explorer une relation entre ce variant allélique et le CaP.

La digestion du produit d'amplification du gène *CYP1A1* par l'enzyme de restriction *MspI* (comme décrit dans le protocole expérimental) a révélé les fragments suivants :

L'amplicon non coupé de 340 bp correspond à l'homozygote sauvage T/T, alors que le génotype hétérozygote T/C possède trois fragments : le fragment non coupé de 340 bp et deux fragments de restriction de 200 et 140 bp. Normalement, le mutant homozygote C/C (n'apparaît pas sur le profil électrophorétique) devrait présenter deux fragments (200 et 140 bp).

Les résultats des génotypes pour le locus T3801C du gène *CYP1A1* sont représentés dans la figure 37.

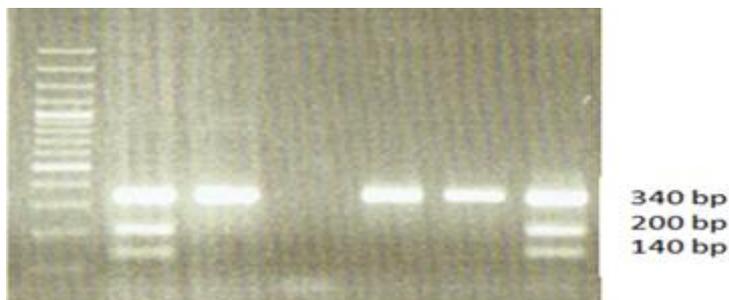


Figure 37 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose (4%) des fragments digérés après digestion par *MspI*. L : marqueur ; 1-6 : sujets.

Après le génotypage du polymorphisme T3801C du *CYP1A1* dans les deux populations patients et témoins, nous avons calculé les fréquences génotypiques et alléliques des différentes formes. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous (Tableau 17) :

Tableau 17 : Répartition des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme T3801C du *CYP1A1*.

	Patients N (%)	Témoins N (%)	OR/CI	<i>p-value</i>
TT	82 (81,18)	85 (84,15)		
TC	19 (18,81)	16 (15,84)	1,23 [0,56-2,72]	0,71
CC	0	0	/	/
TC+CC vs TT	19 (18,81)	16 (15,84)	1,18 [1,72-2,42]	0,71
TT+TC vs CC	101 (100)	101 (100)	/	/
Allèle T	183 (90,59)	186 (92,07)		/
Allèle C	19 (9,40)	16 (7,92)	1,20 [0,57-2,55]	0,72

Dans notre échantillon, la distribution des fréquences génotypiques du polymorphisme T3801C du *CYP1A1* montre que le génotype sauvage TT prédomine que ce soit dans la population des patients (82 cas) ou dans la population des témoins (85 témoins).

Le génotype hétérozygote TC se trouve en deuxième position dans les deux populations (19 cas et 16 témoins). Aucun génotype muté (CC) n'a été identifié dans les deux populations.

A partir des résultats obtenus et le calcul des odds ratio (OR) et de la *p-value* (Tableau 17), nous pourrions suggérer que le polymorphisme T3801C du *CYP1A1* ne semble pas être impliqué dans la survenue du cancer prostatique.

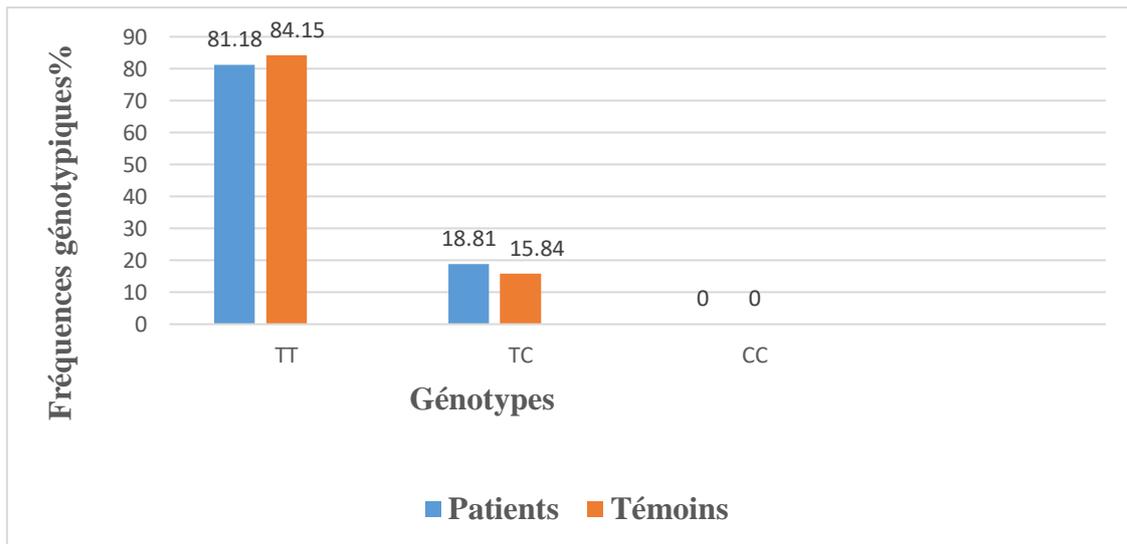


Figure 38 : Fréquences génotypiques du T3801C du *CYP1A1* des patients et des témoins.

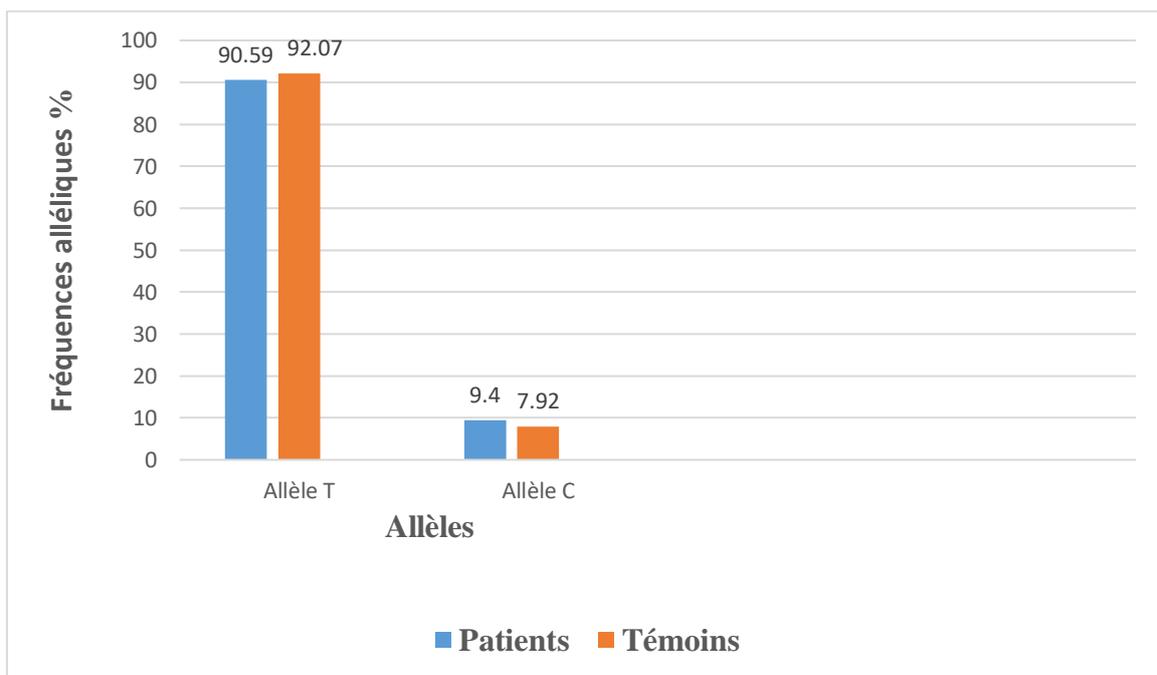


Figure 39 : Fréquences alléliques du T3801C du *CYP1A1* des patients et des témoins.

A partir des fréquences alléliques de T3801C du *CYP1A1*, nos résultats montrent que l'allèle T est dominant chez les deux populations patients et témoins avec des fréquences alléliques de 81,18 et 84,15%, respectivement. Tandis que, l'allèle C est moins fréquent avec 18,81% chez les cancéreux et 15,84% chez les sains. Le calcul de la *p-value* ($p > 0,05$) pour les fréquences

alléliques a également révélé une absence de corrélation entre le polymorphisme T3801C du *CYP1A1* et le cancer prostatique.

De nombreux SNPs dans le gène *CYP1A1* ont été signalés, mais quelques études sont disponibles sur l'association du *CYP1A1* avec le risque de CaP. Dans la présente étude, aucun lien n'a été détecté entre le polymorphisme T3801C étudié et le CaP. Nos résultats sont conformes aux rapports précédents : Souiden et ses collaborateurs (2012) ont constaté qu'il n'y a pas d'association significative entre le polymorphisme T3801C du *CYP1A1* et le CaP chez les patients de la population tunisienne. De plus, l'étude menée par Mandić et al. (2014) n'a pas révélé de lien entre le polymorphisme T3801C du *CYP1A1* et CaP chez les caucasiens, mais, ils ont supposé que l'origine ethnique influence la distribution génotypique de celui-ci et peut donc influencer l'étiologie de la cancérogenèse prostatique. De même, les résultats publiés par Li et al. (2012) concordent avec nos données décrivant une relation similaire entre le polymorphisme T3801C du *CYP1A1* et la prédisposition au CaP. Seul un risque élevé a été observé pour le génotype TC par rapport au génotype CC dans les études asiatiques. En outre, Ou et al. (2016) ont révélé que le génotype TT était associé à un risque de cancer de la prostate, mais l'association pour l'allèle C et le génotype CC n'a pas été trouvée dans la population asiatique.

Néanmoins, de nombreuses études divergent avec nos résultats : Abdel-Razzak et al. (2015) ont constaté un risque de développer un CaP 2,7 fois plus élevé chez les individus porteurs d'au moins un allèle *CYP1A1**2A en précisant que le polymorphisme *CYP1A1**2A est parmi les facteurs de risque génétiques qui contribuent au CaP dans la population libanaise. Par ailleurs, dans la population indienne, Vijayalakshmi et al. (2005), ont noté que le polymorphisme T3801C du *CYP1A1* est associé au CaP. De même, Shaiket al. (2009), He et al. (2014) et Bag et al. (2015) ont postulé pour une forte implication du polymorphisme T3801C du *CYP1A1* dans le développement du CaP.

Il semble que dans le tissu prostatique, l'enzyme de biotransformation *CYP1A1* est polymorphe. La plupart des études signalent que le polymorphisme *CYP1A1**2A est impliqué dans l'expression d'un ARNm fortement traduit, ainsi qu'une sensibilité et une activité enzymatique *CYP1A1* très élevées, d'où il en résulte une accumulation des substances génotoxiques converties en adduits. Une fois que ces derniers se lient à l'ADN, ils peuvent entraîner des altérations génétiques (notamment des mutations au niveau de gènes régulateurs du cycle cellulaire, les gènes de l'apoptose, les proto-oncogènes, les suppresseurs de tumeurs, etc.) initiateurs de la cancérogenèse prostatique.

Bien que nous n'ayons pas constaté une association entre le polymorphisme *CYP1A1**2A et le CaP, nous suggérons que l'allèle T en position 3801 du *CYP1A1* est très conservé dans notre population d'étude.

2.1.1 Combinaison *CYP1A1*-tabac et association au risque du cancer de la prostate

La stratification des patients et des témoins selon les génotypes *CYP1A1* et le statut tabagique est décrite dans le Tableau 18.

Tableau 18 : Corrélation entre le statut tabagique et les génotypes du polymorphisme T3801C du *CYP1A1*.

Polymorphisme	Patients N (%)	Témoins N (%)	OR/IC	P-value
<i>CYP1A1</i>-tabac				
Fumeurs				
<i>TT</i>	54(84,37)	47(83,92)		
<i>TC</i>	10(15,63)	9(13,08)	0,96 [0,3- 2,9]	0,98
Non-fumeurs				
<i>TT</i>	28(75,67)	38(84,44)		
<i>TC</i>	9(24,33)	7(15,56)	1,70 [0,5-6,2]	0,39

Selon nos résultats, la distribution des génotypes du variant *CYP1A1* n'a montré aucun signe d'association entre le tabagisme et le risque de développement de CaP. En fait, cette distribution n'a fourni aucune différence statistiquement significative entre les patients et les témoins. Nos constatations sont confirmées par Souiden et al. (2012) par une étude menée sur une population tunisienne. En outre, Acevedo et al. (2014) signalent que le polymorphisme *CYP1A1**2A est un important facteur de risque du CaP qui augmente avec le tabagisme.

2.2 Résultats du génotypage des délétions des gènes *GSTM1* et *GSTT1*

Notre analyse moléculaire vise à identifier une possible association entre les polymorphismes des gènes *GSTM1* et *GSTT1* et le CaP.

La visualisation aux rayons UV de la migration des fragments d'amplification des gènes étudiés sur le gel a reflété 3 bandes. La première bande, de 110 pb correspond au gène de la β -globine qui est le contrôle interne, tandis que la deuxième bande, de 230 pb correspond quant à elle au gène *GSTM1* et la troisième bande de 480 pb indique la présence de *GSTT1* (Figure 40).

Les délétions homozygotes *GSTM1* et *GSTT1* sont caractérisées par une absence totale des bandes correspondantes à l'amplification (absence des bandes 230 pb et 480 pb). Un déficit

total ou partiel de l'activité enzymatique est le résultat de ces délétions et conduit à un défaut de détoxification favorisant ainsi l'apparition de cancer.

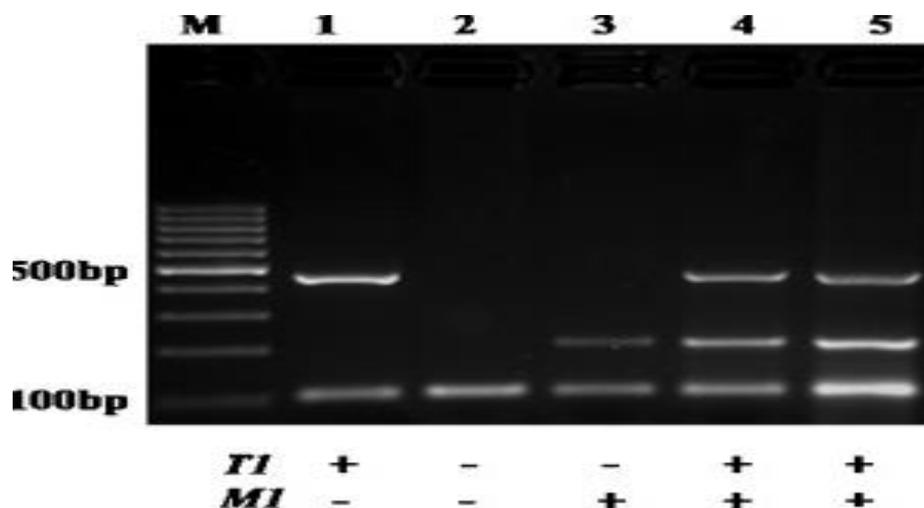


Figure 40 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose (3%) des fragments amplifiés.

La distribution des fréquences des génotypes *GSTM1* et *GSTT1* entre les cas et les témoins, ainsi que les estimations du risque de cancer du CaP, sont indiquées dans le tableau 19.

Tableau 19 : Distribution génotypique des polymorphismes des gènes *GSTM1* et *GSTT1* chez les patients et les témoins.

	Patients N (%)	Témoins N (%)	OR/IC	P-value
M+	43(42,57)	51(50,49)	/	/
M-	58(57,42)	50(49,50)	1,37 [0,76-2,4]	0,26
T+	63(62,37)	78(77,22)	/	/
T-	38(37,62)	23(22,77)	2,03 [1,06 - 3,99]	0,03
M+/T+	30(29,70)	41(40,59)	/	/
M+/T-	13(12,87)	10(9,90)	1,76 [0,62 - 5,2]	0,33
M-/T+	33(32,67)	37(36,63)	1,21 [0,60 - 2,5]	0,61
M-/T-	25(24,75)	13(12,87)	2,6 [1,07 - 6,5]	0,027

Il ressort des résultats obtenus que le génotype *GSTM1-nul* soit plus fréquent que le génotype *GSTT1-nul* dans notre population d'étude. Le génotype *GSTM1-nul* a été délecté chez 49,50% des témoins et 57,42% des patients atteints de CaP. Aucune association significative n'a été constatée en comparant les délétions du gène *GSTM1* ($p = 0,26$, OR 1,37/IC [0,76-2,4]).

La comparaison de la fréquence de la délétion *GSTT1-nul* a montré une différence significative entre les deux groupes, puisqu'elle était retrouvée dans 37,62% de nos patients et 22,77% des témoins.

Les malades porteurs du génotype *GSTT1-nul* présentaient un risque élevé de CaP ($p = 0,03$, OR 2,03/IC [1,06-3,99]).

La combinaison des polymorphismes *GSTM1* et *GSTT1* (+/+), (+/-), (-/+), (-/-) dans le groupe témoin étaient de 40,59, 9,90, 36,63 et 12,87%, respectivement. Alors que chez les patients atteints de CaP, les fréquences étaient de 29,70, 12,87, 32,67 et 24,75%, respectivement. L'association significative a été établie entre *GSTM1-nul* et *GSTT1-nul* ($p = 0,027$, OR=2,6/IC [1,07 - 6,5]).

La délétion homozygote *GSTM1* a été signalée dans la population des patients avec une fréquence de 57,42%. En effet, d'après la littérature il a été rapporté que cette fréquence varie selon l'origine ethnique, elle est estimée à 50% dans la population asiatiques. La fréquence du génotype *GSTT1-nul* est de 41% et 20% chez les populations asiatique et caucasien, respectivement (Rashidi et Suhaili, 2019). Ainsi, la prévalence allant de 47% à 58% pour le génotype *GSTM1-nul* et de 13% à 25% pour le génotype *GSTT1-null* chez les européens blancs (Rebbech, 1997). En comparaison avec la population tunisienne, la distribution des génotypes *GSTM1-nul* et *GSTT1-nul* était 52,73% et 27,27%, respectivement (Souiden *et al.*, 2010).

En ce qui concerne l'association de ces génotypes au risque de carcinome de la prostate, nos résultats suggèrent que la délétion du génotype *GSTM1* ne peut être considérée comme un facteur de risque pour le CaP.

Une absence d'association entre la délétion du *GSTM1* et la CaP a été décrite pour différentes populations : sud-indiennes, japonaises, américaines et africaines (Caceres *et al.*, 2005). Ainsi, nos résultats concordent avec ceux de Komiya *et al.* (2005), Mallick *et al.* (2007), Sivoňová *et al.* (2009), Souiden *et al.* (2010) et Catsburg *et al.* (2012). Inversement, ces constatations ne sont pas conformes aux études turques (Silig *et al.*, 2006), iraniennes (Safarinejad *et al.*, 2011), chilienne (Acevedo *et al.*, 2003), japonaise (Murata *et al.*, 2001) et indienne (Srivastava *et al.*, 2005) qui ont suggéré que ce polymorphisme peut avoir un effet sur le risque de carcinogénèse prostatique .

En outre, de nombreuses méta-analyses ont également démontré une association entre le génotype *GSTM1-nul* et le CaP. Les résultats combinés de 36 études, dont 6202 cas et 8209 témoins inclus dans la méta-analyse de Wei et al. (2012), ainsi les données de Wang et al. (2016) incluant 6741 patients et 9053 témoins, ont signalé une association marquée entre le génotype *GSTM1-nul* et risque de CaP chez l'ensemble de la population étudiée.

La fréquence du génotype *GSTT1-nul* soit plus élevée chez les patients (37,62%) que chez les témoins (22,77%), une association statistiquement significative a été noté ($p = 0,03$). Notre étude a montré que les individus du génotype *GSTT1-nul* avaient un de risque accru de développé le CaP, tels que rapportés dans les populations tunisiennes et coréennes (Souiden *et al.*, 2010 ; Ye-Eun Shin *et al.*, 2016). Ainsi, le génotype *GSTT1-nul* a été associé à un risque trois fois plus élevé de CaP chez les hommes iraniens (Safarinejad *et al.*, 2011).

De même, les résultats publiés par Thakur et al. (2011), Catsburg et al. (2012) ont indiqué une corrélation entre la délétion du *GSTT1* et la prédisposition au cancer de la prostate. Quarante-trois rapports de la méta-analyse de Yang et al. (2013) incluant 26393 sujets (9934 cas et 16459 témoins) avaient montré une association marquée entre le génotype *GSTT1-nul* et le risque de CaP chez l'ensemble de la population. Cependant, les résultats publiés de Zhou (2014) ont signalé que *GSTT1-nul* est associé à un risque de CaP chez les Caucasiens, mais pas dans l'ensemble des populations étudiées.

Inversement, ces constatations ne concordent pas avec celles observées dans plusieurs études (Agalliu *et al.*, 2006 ; Silig *et al.*, 2006 ; Sivoňová *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2011 ; Kwon *et al.*, 2011). La délétion du *GSTT1* n'était pas associée au cancer de la prostate chez les populations asiatiques de race blanche, hommes coréens, africains et américains (Cai *et al.*, 2014). D'autres méta-analyses plus approfondies réalisées par Mo et al. (2009) et Wang et al. (2013) ont démontré qu'il n'y a pas d'association entre le *GSTT1-nul* et le CaP, même dans la sous-analyse portant sur les races et les différentes sources de témoins.

Lorsque les deux génotypes ont été combinés, nous avons observé que la présence des génotypes *GSTM1-nul* et *GSTT1-nul* (double-nul) était associé à un risque accru au développement de CaP, la présence simultanée des deux délétions *GSTM1-nul* et *GSTT1-nul* a été observée chez 24,75% des patients et 12,87% des témoins. Des résultats similaires ont été également obtenus en Iran (Safarinejad *et al.*, 2011). En revanche, la double délétion du *GSTM1* et du *GSTT1* n'a pas été associée au cancer de la prostate dans les études de descendance africaine, brésilienne et caucasienne (Lavender *et al.*, 2009). Une autre méta-analyse n'a montré aucune association de ces deux gènes avec le développement du cancer de la prostate (Ntais *et*

al., 2005). Dans ce contexte, nous pouvons suggérer que la double mutation peut jouer un rôle important dans la susceptibilité au CaP.

Comme le génotype *GSTM1-nul* est plus fréquent que le *GSTT1-nul*, cela indique que la perte de *GSTT1* a un effet plus néfaste que *GSTM1*. De plus, une délétion de *GSTM1* ou *GSTT1* s'est avérée être associée à un manque de l'activité enzymatique correspondante et qui est nécessaire au mécanisme de détoxification. Ainsi, les individus qui portent les génotypes *GSTM1-nul/GSTT1-nul* ont une absence complète d'activité enzymatique.

2.2.1 Combinaison *GST*-tabac et association au risque du cancer de la prostate

En effet, la glutathion-S-transférase, détoxifie les benzo(a)pyrènes et d'autres carcinogènes contenus dans la fumée de tabac. Cependant, dans la littérature, les glutathion S-transférases *M1* et *T1* ont été étudiées comme candidats à risque pour les cancers liés au tabac. Par conséquent, nous avons examiné la corrélation possible entre les génotypes *GSTM1-nul*, *GSTT1-nul* et la sensibilité au CaP dans les sous-groupes des fumeurs et non-fumeurs chez les deux populations (patients/témoins).

La stratification des patients et des témoins selon les génotypes *GST* et le statut tabagique est illustrée dans le tableau 20.

Tableau 20 : Corrélation entre le statut tabagique et les génotypes des *GSTM1* et *GSTT1*.

Génotypes	Patients N (%)	Témoins N (%)	OR/IC	<i>p</i> -value
<i>GSTM1</i>-tabac				
Fumeurs				
<i>M</i> +	24(37,5)	23(41,07)		
<i>M</i> -	40(62,5)	33(58,93)	1,16 [0,5- 2,6]	0,69
Non-fumeur				
<i>M</i> +	19(51,35)	28(62,22)		
<i>M</i> -	18(48,65)	17(37,78)	1,55 [0,6-4,1]	0,37
<i>GSTT1</i>-tabac				
Fumeurs				
<i>T</i> +	38(59,37)	40(71,42)		
<i>T</i> -	26(40,62)	16(28,57)	1,7 [0,75-3,98]	0,18
Non-fumeurs				
<i>T</i> +	25(70,27)	38(84,44)		
<i>T</i> -	12(29,73)	7(15,56)	2,3 [0,7- 7,9]	0,18
<i>GSTM1/GSTT1</i>-tabac				
Fumeurs				
+/+	16(25,02)	20(35,71)		
-/-	17(26,55)	7(12,50)	2,98 [0,9-1,0]	0,06
-/+ ou +/-	31(48,43)	29(51,78)	1,33 [0,53-3,33]	0,53
Non-fumeu				
+/+	14(37,8)	21(46,66)		
-/-	8(21,63)	6(13,33)	1,98 [0,5-8,6]	0,35
-/+ ou +/-	15(40,54)	18 (40,01)	1,24 [0,4-3,6]	0,81

Les résultats indiquent aucune preuve statistiquement significative entre les patients et les témoins en ce qui concerne les corrélations étudiées. De même, la plupart des études précédentes ont indiqués que le tabagisme n'exerce pas un rôle important dans l'apparition du cancer de la prostate (Lotufo *et al.*, 2000 ; Merrick *et al.*, 2004 ; Mittal *et al.*, 2004 ; Caceres *et al.*, 2005 ; Silig *et al.*, 2006 ; Souiden *et al.*, 2010 ; Wei *et al.*, 2012). Par contre, certaines études associent l'augmentation du risque de développer un carcinome de la prostate au statut fumeurs (Plaskon *et al.*, 2003).

2.2.2 Interaction des polymorphismes des gènes *GSTM1*, *GSTT1* et *CYP1A1* avec les paramètres clinico-pathologiques

Les génotypes étudiés dans le présent travail ont été également corrélés par la régression logistique avec des paramètres histo-pathologiques : scores de Gleason et stades cliniques au moment du diagnostic (Tableau 21 et 22).

Table 21 : Corrélation entre les génotypes *GSTM1*, *GSTT1*, *CYP1A1* et les différents Score de Gleason.

Polymorphismes	Score de Gleason		OR/CI	P-value
	GS \leq 7 N (%)	GS $>$ 7 N (%)		
<i>GSTM1</i>				
<i>M+</i>	17(45,94)	26(40,62)	0,89 [0,69-1,15]	0,40
<i>M-</i>	20(54,05)	38(59,38)		
<i>GSTT1</i>				
<i>T+</i>	26(70,27)	37(57,81)	0,91 [0,70-1,17]	0,47
<i>T-</i>	11(29,72)	27(42,19)		
<i>GSTM1/GSTT1</i>				
<i>+/+</i>	13(35,14)	17(26,57)	0,92 [0,71-1,18]	0,52
<i>+/-</i> ou <i>-/+</i>	17(45,94)	29(45,31)		
<i>-/-</i>	07(18,92)	18(28,12)		
<i>CYP1A1</i>				
<i>TT</i>	29(78,37)	53(82,21)	0,78 [0,56-1,07]	0,13
<i>TC</i>	08(21,63)	11(17,19)		

Table 22 : Corrélation entre les génotypes *GSTM1*, *GSTT1*, *CYP1A1* et les stades cliniques.

Polymorphismes	Stades cliniques		OR/CI	P-value
	Localisé N (%)	Avancé N (%)		
<i>GSTM1</i>				
<i>M+</i>	18(42,85)	25(42,38)		
<i>M-</i>	24(57,15)	34(57,62)	0,99 [0,85-1,16]	0,98
<i>GSTT1</i>				
<i>T+</i>	28(66,66)	35(59,32)		
<i>T-</i>	14(33,34)	24(40,68)	1,11 [0,94-1,31]	0,18
<i>GSTM1/GSTT1</i>				
<i>+/+</i>	15(35,71)	15(25,42)		
<i>+/- ou -/+</i>	17(40,48)	29(49,15)	1,02 [0,87-1,20]	0,75
<i>-/-</i>	10(23,81)	15(25,43)	0,89 [0,75-1,06]	0,19
<i>CYP1A1</i>				
<i>TT</i>	33(78,57%)	49(83,05)		
<i>TC</i>	09(21,43%)	10(16,95)	0,84 [0,69-1,03]	0,10

L'analyse stratifiée des polymorphismes étudiés selon le grade ou le stade des patients n'a révélé aucune association significative suggérant que les génotypes ne sont pas associés ni aux stades ni à l'agressivité.

De même, Lima et al. (2008), Rodrigues et al. (2011) n'ont déclaré aucune association entre les génotypes *GSTM1/T1*, *CYP1A1* et la susceptibilité au cancer de la prostate. D'autre part, Safarinejad et al. (2011) ont démontré que le génotype *GSTM1-nul* et le génotype *GSTT1-nul* étaient observés à une fréquence plus élevée chez les patients ayant un score de Gleason >7.

2.3 Etude analytique cas-témoins des profils génotypiques et alléliques du polymorphisme -2578C/A du gène *VEGF*

Cette partie d'analyse moléculaire vise à identifier l'association entre le polymorphisme -2578 C/A du *VEGF* et l'apparition du cancer de la prostate.

La digestion du produit d'amplification du gène *VEGF* par l'enzyme de restriction *BstyI* a révélé les fragments suivants (Figure 41) :

Le premier apparaît sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande de 455 pb correspondant au type homozygote sauvage CC, et le deuxième sous forme de 3 bandes (455, 246, 209 pb) représentant le type hétérozygote CA. L'homozygote muté AA doit montrer deux bandes, une de 209 pb et l'autre de 146 pb à cause de la création d'un nouveau site de restriction pour l'enzyme *BstyI*.

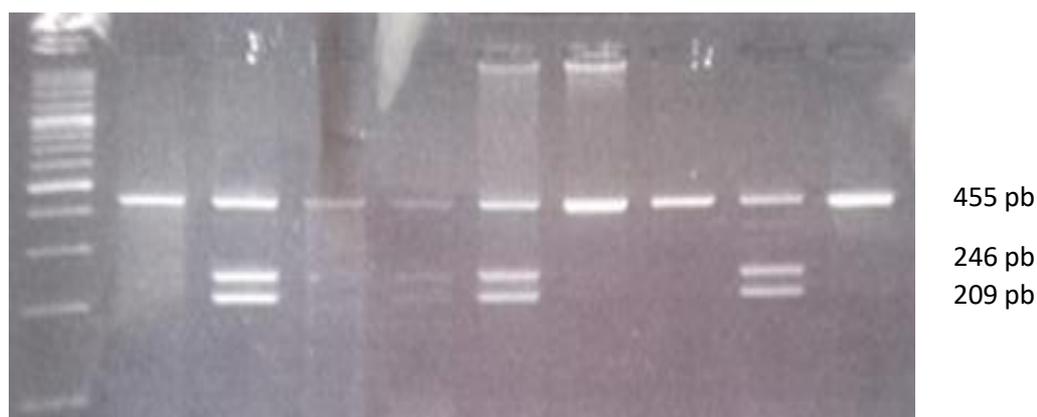


Figure 41 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose (4%) des fragments après digestion par *BstI*.

Afin de vérifier si nos résultats sont significatifs ou non, nous avons établi un tableau de contingence pour calculer l'odds ratio et la *p-value*. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous (Tableau 23) :

Tableau 23 : Répartition des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -2578C/A du *VEGF* chez les patients et les témoins.

	Patients	Témoins	OR	<i>P-value</i>
	N (%)	N (%)		
CC	39 (38,61)	55(54,45)	/	/
CA	47 (46,53)	42 (41,85)	1,58 [0,88-2,8]	0,13
AA	15 (14,85)	4 (3,96)	5,2 [1,5-23]	0,0047
CA+AA vs CC	62 (61,38)	46 (45,54)	1,9 [1,1-3,3]	0,02
CC+CA vs AA	86 (85,14)	97 (96,03)	4,2 [1,3-18]	0,014
Allèle C	125 (61,88)	152 (75,24)	/	/
Allèle A	77 (38,11)	50 (24,75)	1,87 [1,22-2,9]	0,004

39 cas (38,61%) et 55 témoins (54,45%) ont présenté le génotype homozygote CC. Le génotype hétérozygote CA a été détecté chez 47 patients (46,53%) et 42 témoins normaux (41,85%). 15 patients (14,85%) et seulement 4 témoins normaux (3,96%) ont présenté le génotype muté AA. Selon nos résultats, une différence statistiquement significative a été observée entre le polymorphisme -2578C/A du gène *VEGF* et le CaP dans la population testée que ce soit pour les fréquences génotypiques ($p = 0,0047$, OR 5,2/IC [0,88-2,8]) ou bien alléliques ($p = 0,004$, OR 1,87 [1,22-2,9]).

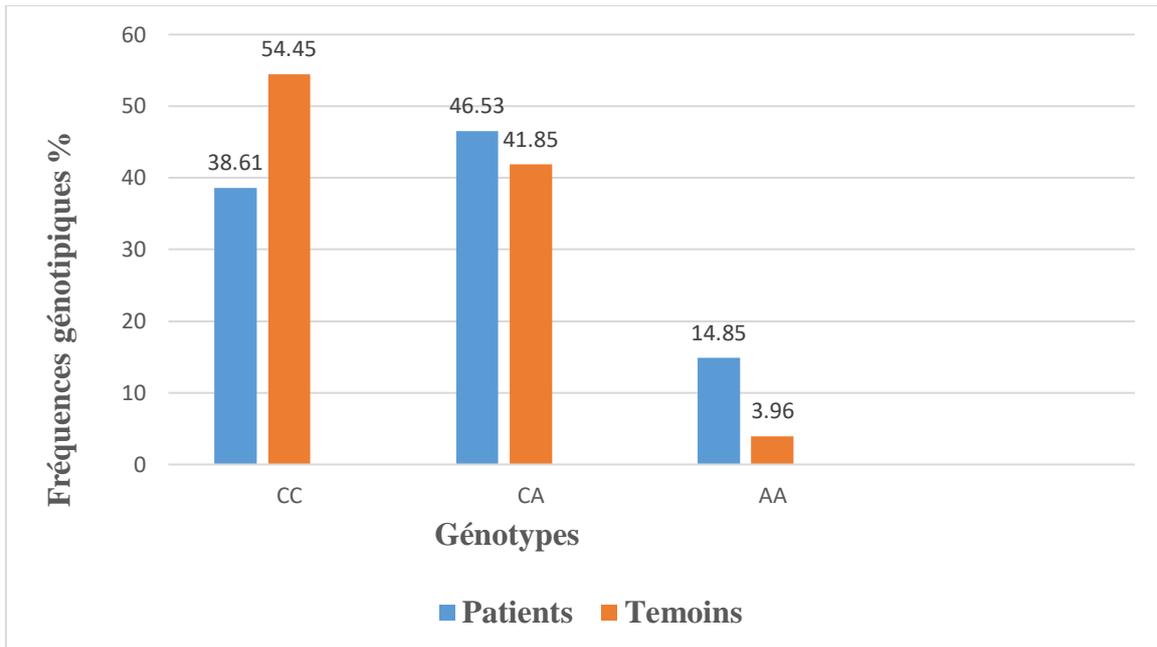


Figure 42 : Fréquences génotypiques du polymorphisme -2578C/A du *VEGF* des patients et des témoins.

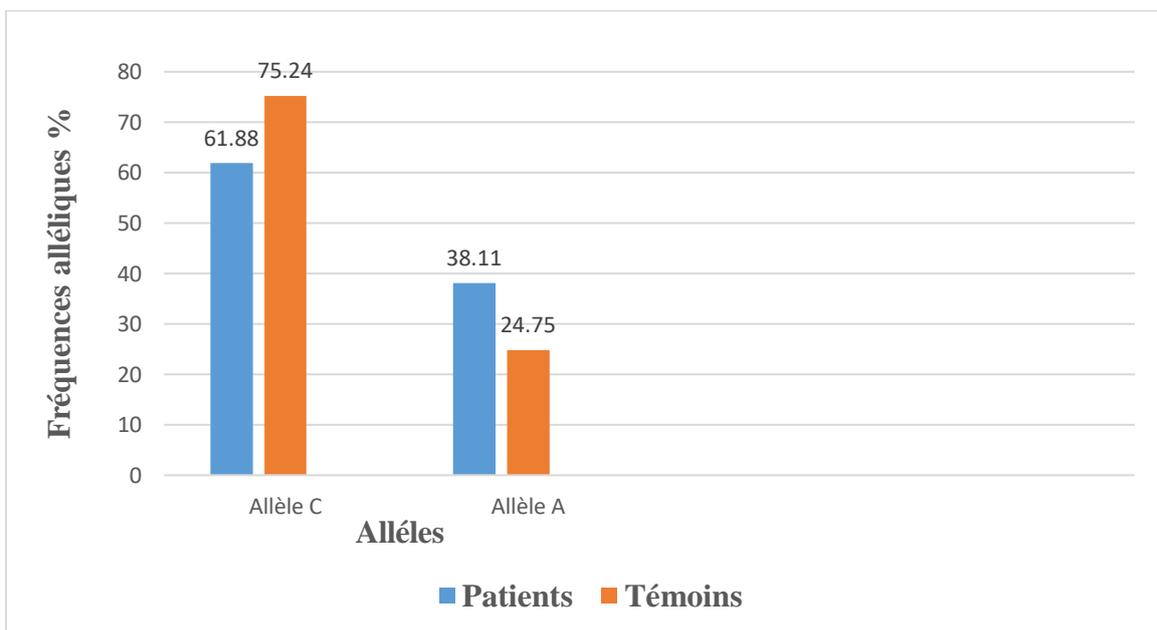


Figure 43 : Fréquences alléliques du -2578C/A du *VEGF* des patients et des témoins.

2.3.1 Interaction du polymorphisme -2578 C/A du *VEGF* avec les paramètres clinico-pathologiques

Les résultats de la régression logistique du polymorphisme -2578C/A du *VEGF* selon le grade ou le stade des patients sont résumés dans les tableaux 24 et 25 :

Table 24 : Corrélation entre le génotype -2578C/A du *VEGF* et les différents Score de Gleason.

Génotypes	Score de Gleason		OR/CI	p-value
	GS≤7 N (%)	GS>7 N (%)		
<i>VEGF-2578C/A</i>				
CC	14(37,83)	25(39,06)		
CA	20(54,05)	27(42,18)	1,05 [0,81 -1,36]	0,70
AA	03(08,10)	12(18,76)	0,96 [0,63 -1,47]	0,88

Table 25 : Corrélation entre le génotype -2578C/A du *VEGF* et les différents stades cliniques.

Génotypes	Stades cliniques		OR/CI	p-value
	Localisé N (%)	Avancé N (%)		
<i>VEGF-2578C/A</i>				
CC	14(33,33)	25(42,37)		
CA	26(61,90)	21(35,59)	0,86 [0,73-1,01]	0,08
AA	02(04,77)	13(22,04)	0,82 [0,64-1,06]	0,13

L'angiogenèse est extrêmement importante non seulement pour la croissance tumorale, mais elle joue également un rôle crucial dans l'invasion et la métastase des cellules tumorales. Elle est régulée par de nombreux facteurs de croissance, parmi lesquels le *VEGF* joue un rôle central et sert de facteur pronostic important dans une variété de tumeurs, dont les cancers de la prostate. Certains polymorphismes fonctionnels du *VEGF* ont été signalés d'être associés à un risque accru pour plusieurs tumeurs (Xu *et al.*, 2010 ; Qin *et al.*, 2014; Rahoui *et al.*, 2014). Un polymorphisme à la position -2578 du promoteur est associé à une surproduction de *VEGF* (Shahbazi *et al.*, 2002) et l'ARNm du *VEGF* est fortement exprimé dans la majorité des tumeurs humaines (Brown *et al.*, 1993).

Dans des études expérimentales, il a été démontré que la variabilité génétique du *VEGF* pourrait influencer l'activité, la fonction ou l'expression de cette protéine (Awata *et al.*, 2002 ; Mohammadi *et al.*, 2003).

Dans la présente étude, nous avons observé que la substitution du nucléotide C en A à la position -2578 entraîne une augmentation du risque de cancer de la prostate. Dans le monde entier, peu d'études ont signalé une corrélation entre ce polymorphisme et le CaP : Martinez-Fierro et al. (2013) ont suggéré que le génotype -2578 A/A du gène *VEGF* peut modifier le risque de susceptibilité au CaP dans la population mexicaine en fournissant un effet protecteur. Contrairement à nos constatations, des résultats négatifs ont été signalés pour cette association dans la population américaine et autrichienne respectivement (Jacobs *et al.*, 2008 ; Langsenlehner *et al.*, 2008).

Des études antérieures ont également rapporté que l'allèle C du *VEGF*-2578C/A présentait une activité de transcription du gène 1,95 fois plus élevée que celle de l'allèle A (Yang *et al.*, 2003). Une autre étude a révélé que le génotype CA du *VEGF* était associé à une expression élevée de cette protéine, tandis que le génotype CC était corrélé à une expression faible (Abe *et al.*, 2002).

En plus des différences d'origine ethnique entre les populations, les rapports contrastés pourraient indiquer que l'implication du polymorphisme -2578C/A du *VEGF* dans la carcinogenèse peut varier selon le type de tumeur et leur progression. De plus, des études antérieures ont rapporté l'association entre le polymorphisme -2578C/A du *VEGF* et le développement de plusieurs types de cancers, tels que le carcinome hépatocellulaire, le cancer cervical, l'ostéosarcome et les carcinomes des cellules rénales (Machado *et al.*, 2014 ; Liu *et al.*, 2015 ; Xian *et al.*, 2015 ; Zhang *et al.*, 2015).

De même, les résultats publiés par Naykoo et al. (2017) ont trouvé une association statistiquement significative entre le génotype -2578C/A et le risque de cancer du poumon dans la population indienne. Rezaei et al. (2016) ont proposé que le polymorphisme -2578C/A du *VEGF* augmente le risque de cancer du sein dans la population iranienne. En outre, Yanfeng et al. (2014) ont avancé que le polymorphisme -2578C/A du *VEGF* pourrait être associé à une augmentation modeste du risque de cancer de la vessie chez les Chinois. Ainsi, ce polymorphisme est en corrélation avec les stades dans lesquels l'angiogenèse joue un rôle essentiel (Nasr *et al.*, 2008 ; Jain *et al.*, 2009 ; Garza-Veloz *et al.*, 2011).

Conclusion et perspectives

Le cancer de la prostate est le cancer le plus fréquent de l'homme en Algérie ainsi que dans le monde, et le nombre de nouveaux cas ne cesse d'augmenter dans notre pays. De nos jours, il est considéré comme un véritable problème de santé public.

D'une part, notre étude statistique descriptive, portant sur 150 patients atteints d'un cancer de la prostate, nous a permis d'identifier les facteurs de risque ainsi que les paramètres histologiques impliqués dans le développement de ce cancer, tels que l'âge avancé (60 ans et plus), la présence d'antécédents familiaux, le tabagisme et l'exposition professionnelle. Ainsi, cette investigation a permis de souligner que la forme sporadique est la plus répandue dans notre échantillon d'étude.

D'autre part, nos résultats nous ont également indiqué que la majorité des cancers de la prostate sont des adénocarcinomes agressifs (PSA > 50 ng/ml ; Score de Gleason $8 \leq SG \leq 10$) et ne sont pas limités à la prostate. Cela est dû au fait que le cancer de la prostate est une pathologie silencieuse et elle n'est diagnostiquée qu'à un stade très avancé.

Nous avons également essayé, à travers ce travail, de déterminer d'éventuelles corrélations entre l'absence du gène *GSTM1*, *GSTT1* et la survenue d'un cancer de la prostate. Ainsi, la relation entre les polymorphismes T3801C du *CYP1A1* et -2578C/A du *VEGF* et la cancérogenèse prostatique a été également évaluée.

L'exploration génotypique et allélique de 101 patients et 101 témoins n'a montré aucun effet entre la délétion du *GSTM1* et le variant T3801C du *CYP1A1* sur la susceptibilité du CaP. Cependant, la délétion du *GSTT1* et la double délétion *GSTM1/GSTT1* sont impliquées dans l'apparition du cancer de la prostate selon les résultats obtenus. Leur déficit total ou partiel conduit à un défaut de détoxification des substances carcinogènes, dont l'accumulation est responsable d'un effet génotoxique, favorisant l'apparition de cancer. Aucune association entre ces polymorphismes et le statut tabagique n'a été détectée. Ainsi, les résultats du variant -2578 C/A du *VEGF* ont montré une relation positive entre ce dernier et la cancérogenèse prostatique. Les analyses de régression logistique n'ont montré aucune corrélation statistiquement significative entre les polymorphismes étudiés et les différents scores de Gleason et stades cliniques au moment du diagnostic du CaP.

Il ressort de l'ensemble des résultats obtenus qu'une étude approfondie et une compréhension des interactions gène-gène et gène-environnement sont indispensables pour la proposition de nouveaux biomarqueurs. Ces biomarqueurs permettraient d'améliorer le diagnostic et le

prognostic de ce cancer, de mettre en place des différentes stratégies de prévention et de thérapeutique adaptées

En somme, en Algérie, malgré sa forte incidence, la sensibilisation au cancer de la prostate reste limitée et les campagnes de dépistages ne sont pas régulièrement établies. C'est pour cela qu'en perspective, nous suggérons la mise en place de campagnes de sensibilisation et de dépistage dans tout le territoire algérien, ce qui pourrait éventuellement permettre non seulement d'informer la population sur cette maladie mais aussi d'abaisser très significativement le taux de mortalité en effectuant des diagnostics précoces.

Dans l'avenir, il serait intéressant de prévoir dans nos perspectives :

- d'élargir et de diversifier l'échantillon afin de mettre en place une étude génétique élargie à de nombreux facteurs de risque intervenant dans le développement du cancer de la prostate et qui pourrait contribuer à mieux déterminer des éléments génétiques de susceptibilité.
- d'étudier d'autres variants du gène *CYP1A1* et leurs implications dans le cancer de la prostate, tels que les variants m2 (A2455G), m3 (T3205C) et m4 (C2453A), ainsi que la combinaison entre ces différents polymorphismes.
- de prospecter l'implication d'autres polymorphismes génétiques impliqués soit dans le métabolisme des xénobiotiques tel que le gène *NAT2*, soit dans les systèmes de réparation d'ADN ou bien encore dans le métabolisme des folates.
- d'examiner le rôle d'autres polymorphismes du gène *VEGF* qui sont encore mal étudiés et qui peuvent influencer la susceptibilité au cancer de la prostate tels que : -2498C>T, -1498C>T, -1154G>A, -634G>C, 936C>T, 1612G>A.
- de recruter plus de patients avec une histoire familiale du CaP afin de rechercher d'éventuelles mutations héréditaires des gènes *HOXB13* (G84E), *RNASEL*.

Références bibliographiques

- Abdel-Razzak Z, Al Attrache H, Rammal G.** Association of *CYP1A1* and *CYP2E1* gene polymorphisms with prostate cancer in a Lebanese population. *International Research Journal of Public and Environmental Health*. 2015;2(10):135-43.
- Abe A, Sato K, Habuchi T, Wang L, Li Z, Tsuchiya N et al.** Single nucleotide polymorphisms in the 3' untranslated region of vascular endothelial growth factor gene in Japanese population with or without renal cell carcinoma. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 2002;198(3):181-90.
- Acevedo C, Quiñones L, Caceres D, Huidobro C, Cabezas J, Roco A.** Polimorfismo de citocromo P-450 (*CYP1A1**2A) como factor de riesgo y pronóstico del cáncer de próstata. *Chilien Journal of Urology*. 2014;79(4):14-25.
- Acevedo C, Opazo JL, Huidobro C, Cabezas J, Iturrieta J, Quinones Sepulveda L.** Positive correlation between single or combined genotypes of *CYP1A1* and *GSTM1* in relation to prostate cancer in Chilean people. *Prostate*. 2003;57(1):111-7.
- Adams C, Werely CJ, Victor T, Hoal E, Rossouw G, Van Helden P.** Allele frequencies for *GST* and *NAT2* differ in african population groupe and may be associated with oesophageal cancer. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2003;41(4):600-5.
- Agalliu I, Langeberg WJ, Lampe JW, Salinas CA, Stanford JL.** Glutathione S-transferase M1, T1, and P1 polymorphisms and prostate cancer risk in middle-aged men. *Prostate*. 2006;66(2):146-56.
- Ahlmime A.** Caractéristiques cliniques et pronostiques du cancer métastatique de la prostate. Morocco. Thèse en médecine. Université de Sidi Mouhamed Ben abdellah. 2017 ; 84 p.
- Allard JB.** Impact clinique de la TEP/TDM à la Fluorocholine dans la prise en charge des récurrences biochimiques des cancers prostatiques. Thèse en sciences /Technologie et Santé. Université de Limoges. 2013; 141 p.
- Alitalo K, Tammela T, Petrova TV.** Lymphangiogenesis in development and human disease. *Nature*. 2005;438(7070):946-53.
- Allt G, Lawrenson JG.** Pericytes : Cell biology and pathology. *Cells tissues organs* 2001;169(1):1-11.
- Almagro S, Durmort C, Chervin-Petiot A, Heyraud S, Dubois M, Lambert O et al.** The motor protein myosin-x transports ve-cadherin along filopodia to allow the formation of early endothelial cell-cell contacts. *Molecular and cellular biology*. 2010;30(7):1703-17.
- Al Nakouzi N.** Etablissement d'un nouveau modèle préclinique de cancer de la prostate et identification de biomarqueurs de résistance au docetaxel. Thèse en médecine. Université Paris Sud - Paris XI. 2011; 261p.
- American Cancer Society.** Facts & Figures 2019. American Cancer Society. Atlanta, Ga. 2019. Available from: <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2019/cancer-facts-and-figures-2019.pdf>

American Institute for Cancer Research. World Cancer Research Fund. Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective: a project of World Cancer Research Fund International. American Institute for Cancer Research. 2007; 517 p.

Ammar H. Implication de la clusterine dans la survie des cellules prostatiques lors de l'apoptose. Thèse en médecine. Université de Liège. 2014; 131p.

Andrysik Z, Galbraith MD, Guarnieri AL, Zaccara S, Sullivan KD, Pandey A et al. Identification of a core TP53 transcriptional program with highly distributed tumor suppressive activity. *Genome Research*. 2017;27(10):1645–57.

Anetor JI, Ajose F, Anetor GO, Iyanda AA, Babalola OO, Adeniyi FA. Cadmium ratio élevé entre le zinc chez les fumeurs de cigarettes: implications potentielles en tant que biomarqueur de risque de cancer de la prostate. *Niger Journal of Physiological Sciences*. 2008;23 (1-2):41-9.

Attard G, Parker C, Eeles RA, Schröder F, Tomlins SA, Tannock I. et al. Prostate cancer. *The Lancet*. 2016;387:70–82.

Attia ZI, El-Baz RA, Hassan HM, Abu-mosallam HM. Vascular endothelial growth factor (VEGF) C/G 405, C/A 2578, and C/T 936 gene polymorphisms in cases with preeclampsia. *The Egyptian Society of Experimental Biology (Zool.)*. 2017;13(2):257-64.

Awata T, Kurihara S, Takata N, Neda T, Iizuka H, Ohkubo T et al. Functional VEGF C-634G polymorphism is associated with development of diabetic macular edema and correlated with macular retinal thickness in type 2 diabetes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2005;333(3):679-85.

Awata T, Inoue K, Kurihara S, Ohkubo T, Watanabe M, Inukai K et al. A common polymorphism in the 5'-untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51(5):1635-9.

Azizi G, Boghozian R, Mirshafiey A. The potential role of angiogenic factors in rheumatoid arthritis. *International Journal of Rheumatic Diseases*. 2014;17(4):369–83.

Azzi S, Gavard J. Vaisseaux sanguins et tumeurs ou l'art du dialogue. *Medecine /Sciences*. 2014;30(4):408–14.

Banayan E. Apport de l'IRM rostatique multiparamétrique avec antenne de surface dans le bilan pré-biologique du cancer de la prostate. Thèse de doctorat. Université Paris Descartes. 2010; 117 p.

Banks RE, Forbes MA, Kinsey SE, Stanley A, Ingham E, Walters C et al. Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets : Significance for VEGF measurements and cancer biology. *British Journal of Cancer*. 1998;77(6):956–64.

Delongchamps BN. Mécanismes de progression des carcinomes de la prostate et recherche de nouveaux facteurs pronostiques. Thèse en médecine. Université Paris XI. 2013; 142 p.

Barbieri CE, Demichelis F, Rubin MA. Molecular genetics of prostate cancer: emerging appreciation of genetic complexity. *Histopathology*. 2012;60(1):187–98.

- Bartsch H, Nair U, Risch A, Rojas M, Wikman H, Alexandrov K.** Genetic polymorphisms of CYP genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2000;9(1):3-28.
- Bastien L, Fourcade RO, Makhoul B, Meria P, Desgrandchamps F.** Hyperplasie bénigne de la prostate. EMC (Elsevier Masson SAS) Urologie. 2012;12(22):14-29.
- Bataillard A, Brusco S, Colombel M, de Laroche G, Delavigne V, Fervers B et al.** Comprendre le cancer de la prostate. Guide d'information et de dialogue à l'usage des personnes malades et de leurs proches. 2005.
- Batty GD, Kivimaki M, Gray L, Davey Smith G, Marmot MG, Shipley MJ.** Cigarette smoking and site-specific cancer mortality: testing uncertain associations using extended follow-up of the original Whitehall study. *Annals of Oncology*. 2008;19(5):996– 1002.
- Benattaa M, Mehdida M, Benhatchib N, Djazouli MA, Boualga K.** Résultats de la biopsie prostatique chez les patients algériens avec un PSA élevé et/ou un toucher rectal suspect. *African Journal of Urology*. 2012;18 (3):138-42.
- Benjemana K.** Etude du polymorphisme des enzymes de détoxification des xénobiotiques dans le cancer du nasopharynx. Thèse en biologie. Université Mentouri Constantine. 2008 ; 123 p.
- Bendjemana K, Abdennebi M, Gara S, Jmal A, Ghanem A, Touati S et al.** Polymorphisme génétique des enzymes glutathion-S-transférases et N-acetyl- transférases 2 dans le cancer du nasopharynx en Tunisie. *Bulletin Cancer*. 2006;93(3):297–302.
- Berry PA, Maitland NJ, Collins AT.** Androgen receptor signalling in prostate: effects of stromal factors on normal and cancer stem cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2008;288(1-2):30-7.
- Berse B, Brown LF, Van DeWater L, Dvorak HF, Senger DR.** Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) gene is expressed differentially in normal tissues, macrophages and tumors. *Molecular Biology of the Cell*. 1992;3(2):211–20.
- Bertrand N, Clerc F.** Panorama des expositions professionnelles à des composés organiques volatils entre 2003 et 2010. *Hygiène et sécurité du travail*. 2011;225 (4):31-44.
- Beuzeboca P, Soulié M, Richaud P, Salmon L, Stearman F, Peyromaure M et al.** Gènes de fusion et cancer de la prostate. De la découverte à la valeur pronostique et aux perspectives thérapeutiques. *Progrès en Urologie*. 2009;19(11):819-24.
- Blanc-Lapierre A, Rousseau MC, Parent ME.** Perceived workplace stress is associated with an increased risk of prostate cancer before age 65. *Frontiers in Oncology*. 2017;7:269.
- Board PG, Menon D.** Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology. *Biochimica et Biophysica Acta*. 201;1830(5):3267-88.
- Board P, Coggan M, Johnston P, Suzuki T.** Genetic heterogeneity of the human Glutathion S-Transferase. *Pharmacological Therapy*. 1990;48:357-69.
- Boissier R.** L'antigène spécifique de la prostate ou PSA. *Progrès en Urologie*. 2011;21(11):798-800.

- Bostwick DG, Cheng L.** Precursors of prostate cancer. *Histopathology*. 2012;60(1):4-27.
- Botto H, Roupret M, Mathieu F, Richard F.** Etude randomisée multicentrique comparant la castration médicale par triptoréline à la castration chirurgicale dans le traitement du cancer de la prostate localement avancé ou métastatique. *Progrès en Urologie*. 2007;17(2):235–9.
- Brogi E, Wu T, Namiki A.** Indirect angiogenic cytokines upregulate VEGF and bFGF gene expression in vascular smooth muscle cells, whereas hypoxia upregulates VEGF expression only. *Circulation*. 1994;90(2):649–52.
- Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Manseau EJ, Dvorak HF et al.** Increased expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in kidney and bladder carcinomas. *The American Journal of Pathology*. 1993;143(5):1255–62.
- Bruns AF, Bao L, Walker JH, Ponnambalam S.** VEGF-A-stimulated signalling in endothelial cells via a dual receptor tyrosine kinase system is dependent on co-ordinated trafficking and proteolysis. *Biochemical Society transactions*. 2009;37 (Pt6):1193-7.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A.** Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *A Cancer Journal of Clinicians*. 2018;68(6):394-424.
- Cai Q, Wang Z, Zhang W, Guo X, Shang Z, Jiang N et al.** Association between glutathione S-transferases M1 and T1 gene polymorphisms and prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Tumour Biology*. 2014;35(1):247–56.
- Campi R, Brookman-May SD, Subiela Henríquez JD, Akdoğan B, Brausi M, Klatte T et al.** Impact of Metabolic Diseases, Drugs, and Dietary Factors on Prostate Cancer Risk, Recurrence, and Survival: A Systematic Review by the European Association of Urology Section of Oncological Urology. *European Urology Focus*. 2018 (in press).
- Cannon-Albright LA, Farnham JM, Bailey M, Albright FS, Teerlink CC, Agarwal N et al.** Identification of specific Y chromosomes associated with increased prostate cancer risk. *The Prostate*. 2014;74(9):991-8.
- Caceres DD, Iturrieta J, Acevedo C, Huidobro C, Varela N, Quiñones L.** Relationship among metabolizing genes, smoking and alcohol used as modifier factors on prostate cancer risk: Exploring some gene-gene and gene-environment interactions. *European Journal of Epidemiology*. 2005;20(1):79–88.
- Cao Y, Ji WR, Qi P, Rosin A, Cao Y.** Placenta growth factor: Identification and characterization of a novel isoform generated by rna alternative splicing. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1997;235(3):493-8.
- Catsburg C, Joshi AD, Corral R, Lewinger JP, Koo J, John EM et al.** Polymorphisms in carcinogen metabolism enzymes, fish intake, and risk of prostate cancer. *Carcinogenesis*. 2012;33(7):1352-9.

Caunt M, Mak J, Liang WC, Stawicki S, Pan Q, Tong RK et al. Blocking neuropilin-2 function inhibits tumor cell metastasis. *Cancer Cell*. 2008;13(4):331-42.

Cerliani MB, Pavicic W, Gili JA, Klein G, Saba S, Richard S. Cigarette smoking, dietary habits and genetic polymorphisms in *GSTT1*, *GSTM1* and *CYP1A1* metabolic genes: A case-control study in oncohematological diseases. *World Journal of Clinical Oncology*. 2016;7(5):395-405.

Chelbi H, Lachheb J, Ammar J, Hamzaoui K, Hamzaoui A. Association of GST genes polymorphisms with asthma in Tunisian children. *Mediators of Inflammation*. 2007;6(7):1-6.

Christensen CH, Platz EA, Andreotti G, Blair A, Hoppin JA, Koutros S et al. Coumaphos exposure and incident cancer among male participants in the agriculture health study (AHS). *Environmental Health Perspectives*. 2010;118(1):92-6.

Crawford ED. Understanding the epidemiology, natural history, and key pathways involved in prostate cancer. *Urology*. 2009;73(5):4-10.

Coggan M, Whitbread L, Whittington A, Board P. Structure and organization of the human theta class glutathione S-transferase and D-dopachrome tautomerase gene complex. *The Biochemical Journal*. 1998;334 (3):617-23.

Collège de la Haute Autorité de Santé. Cancer de la prostate : identification des facteurs de risque et pertinence d'un dépistage par dosage de l'antigène spécifique prostatique (PSA) de populations d'hommes à haut risque?. Service d'évaluation économique et santé publique. 2012; 78 p.

Continuous Update Project. The Associations between Food, Nutrition and Physical Activity and the Risk of Prostate Cancer. 2014.

Correia MA, Sinclair PR, De Matteis F. Cytochrome P450 regulation: The interplay between its heme and apoprotein moieties in synthesis, assembly, repair and disposal. *Drug metabolism reviews*. 2011;43(1):1-26.

Cross MJ, Claesson-Welsh L. FGF and VEGF function in angiogenesis: signalling pathways, biological responses and therapeutic inhibition. *Trends in Pharmacology Sciences*. 2001;22(4):201-7.

Cussenot O, Cancel-Tassin G. Le point sur la prédisposition génétique pour le cancer de la prostate. *Bulletin du Cancer*. 2015;1(102):53-6.

Cussenot O, Cancel-Tassin. Genetic susceptibility to prostate cancer. *Médecine/Sciences*. 2004;20(5):562-8.

Colombela M, Riccib E, Picardb A, Bourrellyb E. Hyperméthylation et cancer de la prostate. *Progrès en Urologie*. 2010;20(6):408-15.

Cornu JN, Cancel-Tassin G, Ondet V, Girardet C, Cussenot O. Olfactory detection of prostate cancer by dogs sniffing urine : a step forward in early diagnosis. *European Urology*. 2011;59(2):197-201.

Cornud F, Lecouvet F, Portalez D. Impact de l'IRM sur la prise en charge d'un cancer de prostate. *Progrès en urologie*. 2010;20(1):13-20.

- Dallagi T.** Conception caractérisation et évaluation de nouveaux radiotraceurs pour le diagnostic et le traitement du cancer du sein et de la prostate. Thèse en Chimie Bioorganométallique. Université de Pierre et Marie Curie Paris VI et à l'Université de Tunis El Manar. 2010; 250 p.
- Dana A, Foult JM.** Place de l'imagerie dans le bilan d'extension et le suivi post-thérapeutique du cancer de la prostate. *Oncologie*. 2010;12(3):230-4.
- Daniel SE, Kurt E, Hans-Peter S.** Prostatite - L'important pour la pratique. *Forum Médical Suisse*. 2007;7(2):55-62.
- Datta MW, Hernandez AM, Schlicht MJ, Kahler AJ, DeGueme AM, Dhir R et al.** Perlecan, a candidate gene for the CAPB locus, regulates prostate cancer cell growth via the Sonic Hedgehog pathway. *Urologic Oncology*. 2007;25(3):280.
- Dayon A.** Rôle de la sphingosine kinase-1 dans la survie et la progression des cellules tumorales prostatiques LNCaP vers l'androgéno-indépendance. Thèse en Physiopathologie. Université de Toulouse III Paul Sabatier. 2008; 141 p.
- Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, Grosclaude P, Remontet L, Colonna M et al.** Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018: Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. *Santé Publique, Institut national du cancer*. 2019.
- De Gouvello A, Meria P, Simon P.** Cancer de la prostate. *Urologie*. 2009;33-41.
- De Marzo AM, Platz EA, Sutcliffe S, Xu J, Grönberg H, Drake CG et al.** Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nature Reviews Cancer*. 2007;7(4):256-69.
- Demichelis F, Stanford JL.** Genetic predisposition to prostate cancer: Update and future perspectives. *Urologic Oncology*. 2015;33(2):75–84.
- Denekamp J.** Review article : angiogenesis, neovascular proliferation and vascular pathophysiology as targets for cancer therapy. *British Journal of Radiology*. 1993;66(783):181-96.
- Descotes JL.** Diagnosis of prostate cancer. *Asian Journal of Urology*. 2019;6:129–136.
- Djonov V, Baum O, Burri PH.** Vascular remodeling by intussusceptive angiogenesis. *Cell and Tissue Research*. 2003;314(1):107-17.
- Dong J, Zhang Q, Cui Q, Huang G, Pan X, Li S.** Flavonoids and Naphthoflavonoids: Wider Roles in the Modulation of Cytochrome P450 Family 1 Enzymes. *ChemMedChem*. 2016;11(19):2102-18.
- Dong JT.** Prevalent mutations in prostate cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2006;97(3):433–47.
- Ducassou L.** Etude biochimique d'un cytochrome P450 de cerveau humain: le CYP2U1. Thèse en Chimie Biologique. Université Paris Descartes, 2012; 201 p.
- Ebnöther E, Hablützel J.** Facteurs de risque et prévention, le dépistage du cancer de la prostate. *Ed Ligue suisse contre le cancer*. 2014;3(1):9-10.

- Ecke TH, Schlechte HH, Schiemenz K, Sachs MD, Lenk SV, Rudolph BD et al.** TP53 gene mutations in prostate cancer progression. *Anticancer Research*. 2010;30(5):1579-86.
- Egrot C.** PSA et dépistage du cancer de la prostate : enjeux, controverses et perspectives. Thèse en médecine. Université Henri Poincaré Nancy I. 2010; 84 p.
- Elgamal AA, Holmes EH, Su SL, Tino WT, Simmons SJ, Peterson M et al.** Prostate-specific membrane antigen (PMSA): current benefits and future value. *Seminars in Surgical Oncology*. 2000;18(1):10-6.
- El Ghazoui A.** L'impact des marges chirurgicales positives sur la récurrence et le traitement du cancer localisé de la prostate après prostatectomie radicale (à propos de 276 cas). Thèse en médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. 2016; 142 p.
- Elias AP, Dias S.** Microenvironment changes (in ph) affect vegf alternative splicing. *Cancer microenvironment*. 2008;1(1):131-9.
- Fané M.** Pathologie tumorale prostatique au service d'urologie du CHU Gabriel Toure. Thèse en médecine. Université. 2009; 83 p.
- Fant C.** Etude comparée de la pathogénie du cancer de la prostate dans les modèles humain et canin. Thèse en médecine. Université CLAUDE Bernard Lyon I. 2015; 182 p.
- Ferlay, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M et al.** Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*. 2015;136(5):359-86.
- Ferrara N, Henzel WJ.** Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1989;161(2):851-8.
- Flam T.** Maladie de la prostate. Uropage. France. Dernières mise à jour informations médicales et légales les 29.10.2011. Dernières modifications de cette page effectuée le 26.11.2011.
- Florentina P, Schmidt J, DERNONCOURT A, Salle V, Gourguechon C, Smail A et al.** Agriculteurs et risque de cancers : étude cas-témoins prospective. *La Revue de Médecine Interne*. 2017;38(1):59-60.
- Foerster B, Pozo C, Abufaraj M, Mari A, Kimura S, D'Andrea D et al.** Association of Smoking Status With Recurrence, Metastasis, and Mortality Among Patients With Localized Prostate Cancer Undergoing Prostatectomy or Radiotherapy A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of the American Medical Association*. 2018;4(7):953-61.
- Folkman J, Shing Y.** Angiogenesis. *The Journal of Biological Chemistry*. 1992;267(16):10931-4.
- Folkman J.** Angiogenesis in psoriasis: Therapeutic implications. *Journal of Investigative Dermatology*. 1972;59(1):40-3.
- Folkman J.** Tumor angiogenesis : Therapeutic implications. *The New England journal of medicine*. 1971;285:1182-6.

- Fournier G, Valeri A, Mangin P, Cussenot O.** Cancer de la prostate. Epidémiologie. Facteurs de risques. Anatomopathologie. Annales d'urologie. 2004;38(5):207-24.
- Fradet V.** Les lipides et les cancers urologiques - approches épidémiologiques. Thèse en Sciences Biomédicales. Université de Montréal. 2011; 176 p.
- Friedberg EC.** DNA damage and repair. Nature. 2003;421(6921):436-40.
- Fukuda H, Tsuchiya N, Narita S, Kumazawa T, Horikawa Y, Inoue T et al.** Clinical implication of vascular endothelial growth factor T-460C polymorphism in the risk and progression of prostate cancer. Oncology Reports. 2007;18(5):1155-63.
- Fukumura D, Xavier R, Sugiura T, Chen Y, Park EC, Lu N et al.** Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells. Cell. 1998;94(6):715-25.
- Galal AM, Walker LA, Khan IA.** Induction of *GST* and related events by dietary phytochemicals: Sources, chemistry, and possible contribution to chemoprevention. Current Topics in Medicinal Chemistry. 2015;14(24):2802-21.
- Gan Y, Li L, Zhang L, Yan S, Gao C, Hu S et al.** Association between shift work and risk of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis of observational studies. Carcinogenesis. 2018;39(2):87-97.
- Gandhi J, Afridi A, Vatsia S, Joshi G, Joshi G, Kaplan SA et al.** The molecular biology of prostate cancer: current understanding and clinical implications. Prostate Cancer and Prostatic Diseases. 2018;21(1):22–36.
- Garnick MB.** Can prostate cancer be prevented? Annual Report on Prostate Diseases. Ed Harvard Medical School;2016. pp 124.
- Gao T, He B, Pan Y, Li R, Xu Y, Chen L et al.** The Association of Retinoic Acid Receptor Beta2(RAR β 2) Methylation Status and Prostate Cancer Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis. PLoS One. 2013;8(5):e62950.
- Garte S, Gaspari L, Alexandrie AK, Ambrosone C, Autrup H, Autrup JL et al.** Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. 2001;10(12):1239–48.
- Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, Cortes-Flores R, Martinez-Gaytan V, Rivera-Munoz JE, Garcia-Mayorga EA et al.** No association between polymorphisms/ haplotypes of the vascular endothelial growth factor gene and preeclampsia, BMC Pregnancy Childbirth. 2011;11:35.
- Gaucher AS.** Cancer de la prostate : les marqueurs biologiques. Médecine Nucléaire. 2011;35(6):373-7.
- Gaudry M, Brégerie O, Andrieu V, El Benna J, Pocidalo MAA, Hakim J.** Intracellular pool of vascular endothelial growth factor in human neutrophils. Blood. 1997;90(10):4153– 61.

George J, Liddle C, Murray M, Byth K, Farrell GC. Pre-translational regulation of cytochrome P450 genes is responsible for disease-specific changes of individual P450 enzymes among patients with cirrhosis. *Biochemical Pharmacology*. 1995;49(7):873-81.

Gerhardt H, Betsholtz C. Endothelial-pericyte interactions in angiogenesis. *Cell and Tissue Research*. 2003;314(1):15-23.

Gevaert T, Lerut E, Joniau S, Franken J, Roskams T, De Ridder D. Characterization of subepithelial interstitial cells in normal and pathological human prostate. *Histopathology*. 2014;65(3):418–28.

Giri VN, Beebe-Dimmer JL. Familial prostate cancer. *Seminars in Oncology*. 2016;43(16):560–5.

Giusiano-Courcambeck S. Rôle de TP53INP1 dans l’histoire naturelle du cancer prostatique. Thèse en médecine. Université d’Aix-Marseille. 2012; 64 p.

Globocan 2018 [cited 2019 12/02/2019]. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/onlineanalysis-multi-bars>.

Godoy W, Albano RM, Moraes EG, Pinho PR, Nunes RA, Saito EH et al. CYP2A6/2A7 and CYP2E1 expression in human oesophageal mucosa: regional and inter-individual variation in expression and relevance to nitrosamine metabolism. *Carcinogenesis*. 2002;23(4):611-6.

Grelet E, Parisotto M, Metzge D. Comment limiter la progression des tumeurs prostatiques déficientes en PTEN ?. *Medecine Science*. 2018;34(11):904-6.

Guengerich FP. Kinetic deuterium isotope effects in cytochrome P450 oxidation reactions. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*. 2013;56(9):428-31.

Guideline F. Prostate cancer. Developed for NICE by the National Collaborating Center for Cancer. 2008.

Haiko P, Makinen T, Keskitalo S, Taipale J, Karkkainen MJ, Baldwin ME et al. Deletion of vascular endothelial growth factor c (VEGF-C) and VEGF-D is not equivalent to VEGF receptor 3 deletion in mouse embryos. *Molecular and Cellular Biology*. 2008;28(15):4843-50.

Hamdi Cherif M, Bidoli E, Birri S, Mahnane A, Zaidi Z, Boukharouba H et al. Cancer estimation of incidence and survival in Algeria 2014. Noble Research Publishers. 2015;3(9):100-4.

Hamdi-Cherif M, Bidoli E, Birri S, Mahnane A, Laouamri S, Zaidi Z et al. Le cancer à Sétif, Algérie, 1986–2010. *Journal Africain du Cancer*. 2014;6(3):166-73.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*. 2011;144(5):646–74.

Hao H, Naomoto Y, Bao X, Watanabe N, Sakurama K, Noma K et al. HSP90 and its inhibitors. *Oncology Reports*. 2010;23(6):1483-92.

- Harik LR, O'Toole KM.** Nonneoplastic lesions of the prostate and bladder. *Archives of pathology & laboratory medicine.* 2012;136(7):721-34.
- Hatcher D, Daniels G, Osman I, Lee P.** Molecular mechanisms involving prostate cancer racial disparity. *American Journal of Translational Research.* 2009;1(3):235–48.
- Haute Autorité de Santé.** Cancer de la prostate : identification des facteurs de risque et pertinence d'un dépistage par dosage de l'antigène spécifique prostatique (PSA) de populations d'hommes à haut risque ? [cité 20 juin 2019]. <https://www.hassante.fr>
- Heaney J, Gill C, Camilleri J-P.** le cancer de la prostate. 2009;17–56p.
- He P, Court MH, Greenblatt DJ, Moltke LL.** Factors influencing midazolam hydroxylation activity in human liver microsomes. *Drug Metabolism and Disposition.* 2006;34(7):1198-207.
- Hecht SS.** Cigarette smoking: cancer risks, carcinogens, and mechanisms. *Langenbeck's Archives of Surgery.* 2006;391(6):603–13.
- Hecht SS, Hochalter JB, Villalta PW, Murphy SE.** 2'-Hydroxylation of nicotine by cytochrome P450 2A6 and human liver microsomes: formation of a lung carcinogen precursor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2000;97(23):12493-7.
- Heloterä H, Alitalo K.** The VEGF family, the inside story. *Cell.* 2007;130(4):591-2.
- Henrique R, Oliveira AI, Costa VL, Baptista T, Martins AT, Morais A et al.** Epigenetic regulation of MDR1 gene through post-translational histone modifications in prostate cancer. *BMC Genomics.* 2013;14(898):2-12.
- Hickey K, Do KA, Green A.** Smoking and prostate cancer. *Epidemiology Reviews.* 2001;23(1):115–25.
- Hireche A, Chaoui-kherouatou N, Ribouh A, Abadi N, SHI MJ, Satta D.** Polymorphic deletions of glutathione S-transferases M1, T1 and bladder cancer risk in algerian population. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* 2018;11(5):458-462.
- Howell WM, Bateman AC, Turner SJ, Collins A, Theaker JM.** Influence of vascular endothelial growth factor single nucleotide polymorphisms on tumour development in cutaneous malignant melanoma. *Genes & Immunity.* 2002;3(4):229- 32.
- Hughes S, Chan-Ling T.** Characterization of smooth muscle cell and pericyte differentiation in the rat retina in vivo. *Investigative ophthalmology & visual science.* 2004;45(8):2795- 806.
- Huncharek M, Haddock K, Reid R, Kupelnick B.** Smoking as a risk factor for prostate cancer: a metaanalysis of 24 prospective cohort studies. *American Journal of Public Health.* 2010;100(4):693-701.

- Hutiev TS, Engbang NJP, Owona MLJ, Hosroev RG, Beslekoev US.** Épidémiologie du cancer de la prostate en Ossétie du Nord (Russie). *Journal Africain du Cancer*. 2015;7(3):122-6.
- Ibrahim T, Flamini E, Mercatali L, Sacanna E, Serra P, Amadori D.** Pathogenesis of osteoblastic bone metastases from prostate cancer. *Cancer*. 2010;116(6):1406-18.
- Ittmann M.** Anatomy and Histology of the Human and Murine Prostate. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2018;8(5):a030346.
- Jacobs EJ, Hsing AW, Bain EB, Stevens VL, Wang Y, Chen J et al.** Polymorphisms in angiogenesis-related genes and prostate cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2008;17(4):972-7.
- Jagla M.** Etude de l'impact de mutations du domaine de liaison à l'ADN sur les fonctions du récepteur des androgènes dans le cancer de la prostate. Thèse en Sciences du vivant. Université Louis Pasteur Strasbourg I. 2007; 175p.
- Jain L, Vargo CA, Danesi R, Sissung TM, Price KD, Venzon D et al.** The role of vascular endothelial growth factor SNPs as predictive and prognostic markers for major solid tumors. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2009;8(9):2496-508.
- Jarvholm B, Silverman D.** Lung cancer in heavy equipment operators and truck drivers with diesel exhaust exposure in the construction industry. *Occupational and Environmental Medicine*. 2003;60(7):516-20.
- Watters JL, Park Y, Hollenbeck A, Schatzkin A, Albanes D.** Cigarette Smoking and Prostate Cancer in a Prospective US Cohort Study. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prevention*. 2009;18(9):2427-35.
- Jones MK, Harris MA, Peters PA, Tjepkema M, Demers PA.** Prostate cancer and occupational exposure to whole-body vibration in a national population-based cohort study. *American Journal of Industrial Medicine*. 2014;57(8):896-905.
- Jordan VC.** A century of deciphering the control mechanisms of sex steroid action in breast and prostate cancer: the origins of targeted therapy and chemoprevention. *Cancer Research*. 2009;69(4):1243-54.
- Kalluri R.** Discovery of type IV collagen non-collagenous domains as novel integrin ligands and endogenous inhibitors of angiogenesis. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. 2002;67:255-66.
- Karkkainen MJ, Haiko P, Sainio K, Partanen J, Taipale J, Petrova TV et al.** Vascular endothelial growth factor c is required for sprouting of the first lymphatic vessels from embryonic veins. *Nature Immunology*. 2004;5(1):74-80.
- Kawai Y, Sakano S, Korenaga Y, Eguchi S, Naito K.** Associations of single nucleotide polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene with the characteristics and prognosis of renal cell carcinomas. *European Urology*. 2007;52(4):1147-55.

- Kearney JB, Kappas NC, Ellerstrom C, DiPaola FW, Bautch VL.** The VEGF receptor flt-1 (VEGFR-1) is a positive modulator of vascular sprout formation and branching morphogenesis. *Blood*. 2004;103(12):4527-35.
- Kelada SN, Kardia SL, Walker AH, Wein AJ, Malkowicz SB, Rebbeck TR.** The glutathione S-transferase-mu and -theta genotypes in the etiology of prostate cancer: genotype-environment interactions with smoking. *Cancer Epidemiology and Biomarkers Prevention*. 2000;9(12):1329-34.
- Kerbel, R, Folkman, J.** Clinical translation of angiogenesis inhibitors. *Nature Reviews Cancer*. 2002;2(10):727-39.
- Keyt BA, Nguyen HV, Berleau LT, Duarte CM, Park J, Chen H et al.** Identification of vascular endothelial growth factor determinants for binding kdr and flt-1 receptors. Generation of receptor-selective VEGF variants by site-directed mutagenesis. *The Journal of biological chemistry*. 1996;271(10):5638-46.
- Khan H.** Determinants of prostate cancer: the birmingham prostatic neoplasms association study. Thesis in philosophy. The University of Birmingham. 2011; 219 p.
- Khiari R, Ghoubel J, Dridi M, Maarouf J, Ben Rais N, Ghozzi S.** Résultats carcinologiques et fonctionnels de 50 prostatectomies radicales consécutives. *La tunisie médicale*. 2011;89(1):703-8.
- Kido T, Lau YF.** The Y-located gonadoblastoma gene TSPY amplifies its own expression through a positive feedback loop in prostate cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2014;446(1):206-11.
- Klingenberg M.** Pigments of rat liver microsomes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1958;75(2):376-86.
- Koch S, Tugues S, Li X, Gualandi L, Claesson-Welsh L.** Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *The Biochemical journal*. 2011;437(2):169-83.
- Komiya Y, Tsukino H, Nakao H.** Human glutathione S-transferase A1, T1, M1, and P1 polymorphisms and susceptibility to prostate cancer in the Japanese population. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2005;131(4):238-42.
- Konan PG, Gowe EE, Dekou AH, Fofana A, Vodi CC, Kramo NF et al.** Cancer métastatique de la prostate dans le service d'urologie du CHU de Cocody. *Uro'Andro*. 2015;1(4):172-6.
- Kong SY, Park JW, Lee JA, Park JE, Park KW, Hong KE et al.** Association between vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and survival in hepatocellular carcinoma patients. *Hepatology*. 2007;46(2):446-55.
- Kumar V, Yadav CS, Datta SK, Singh S, Ahmed RS, Goel S et al.** Association of *GSTM1* and *GSTT1* polymorphism with lipid peroxidation in benign prostate hyperplasia and prostate cancer: A pilot study. *Disease Markers*. 2011;30(4):163-9.
- Kurita T.** Role of p63 and basal cells in the prostate. *Development*. 2004;131(20):4955-64.

Kwon DD, Lee JW, Han DY, Seo IY, Park SC, Jeong JH et al. Relationship between the glutathione-S-transferase P1, M1, and T1 genotypes and prostate cancer risk in Korean subjects. *Korean Journal of Urology*. 2011;52(4):247–52.

Labouret E. Faut-il dépister le cancer de la prostate par le PSA ? Enquête auprès des médecins généralistes de la Haute-Vienne. Thèse en Médecine. Université de Limoges. 2011; 141 p.

Lafunte A, Pujol F, Carretero P, Villa JP, Cuchi A. Human glutathione S-transferase m (GSTm) deficiency as a marker for the susceptibility to bladder and larynx cancer among smokers. *Cancer Letters*. 1993;68:49–54.

Lamott G. thèses d'exercice : «interaction médicamenteuse : le rôle des CYP450 ». 2002.

Lamy P, Montels F, Tosi D, Leizour B. Evaluation du test (-2) proPSA combiné au PSA total et PSA libre pour la détection précoce du cancer de la prostate. *Annales de Biology Clinique*. 2013;71(5):537-44.

Landi S. Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: a review. *Mutation Research*. 2000;463(3):247-83.

Langan RC. Benign Prostatic Hyperplasia. *Primary Care*. 2019;46(2):223–32.

Langsenlehner T, Langsenlehner U, Renner W, Krippel P, Mayer R, Wascher TC et al. Single nucleotide polymorphisms and haplotypes in the gene for vascular endothelial growth factor and risk of prostate cancer. *European Journal of Cancer*. 2008;44(11):1572-6.

Larré S, Azzouzi A, Cancel-Tassin G, Cormier L, Villette JM, Hoffmann P et al. Impact de l'obésité sur le PSA lors du dépistage du cancer de la prostate. *Progrès en Urologie*. 2007;4(17):815-8.

Lattouf JB, Fred S. Le cancer de la prostate : ce que vous devez savoir. *Le clinicien*. 2007;22(2):71-5.

Laurent V, Guérard A, Mazerolles C, Le Gonidec S, Toulet A, Nieto L et al. Periprostatic adipose tissue acts as a driving force for the progression of prostate cancer in obesity. *Nature Communications*. 2016;7:10230.

Laursen T, Jensen K, Møller BL. Conformational changes of the NADPH-dependent cytochrome P450 reductase in the course of electron transfer to cytochromes P450. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2011;1814(1):132-8.

Lavender NA, Benford ML, Vancleave TT, Brock GN, Kittles RA, Moore JH et al. Examination of polymorphic glutathione S-transferase (*GST*) genes, tobacco smoking and prostate cancer risk among men of African descent: a case-control study. *BMC Cancer*. 2009;9:397.

Le Broc D. Impact de l'environnement chimique sur la prise en charge de molécules à visée anticancéreuse : Effet du cadmium sur l'efficacité potentielle de la Phenstatine et de ses métabolites dans le traitement du cancer de la prostate. Thèse en Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Université Lille Nord de France. 2011; 152 p.

Lee CH, Akin-Olugbade O, Kirschenbaum A. Overview of Prostate Anatomy, Histology, and Pathology. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. 2011;40(3):565–75.

Leitzmann MF, Rohrmann S. Risk factors for the onset of prostatic cancer: age, location, and behavioral correlates. *Clinical Epidemiology*. 2012;4:1-11.

Lemasters GK, Genaidy AM, Succop P, Deddens J, Sobeih T, Barriera-Viruet H et al. Cancer risk among firefighters: a review and meta-analysis of 32 studies. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 2006;48(11):1189-202.

Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*. 1989;246(4935):1306-9.

Li H, Xiao D, Hu L, He T. Association of CYP1A1 polymorphisms with prostate cancer risk: an updated meta-analysis. *Molecular Biology Reports*. 2012;39(12) 10273- 84.

Li X, Tjwa M, Van Hove I, Enholm B, Neven E, Paavonen K et al. Reevaluation of the role of VEGF-B suggests a restricted role in the revascularization of the ischemic myocardium. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*. 2008;28(9):1614-20.

Lilja H, Botchorishvili G, Matikainen MP. Prostate - specific antigen and prostate cancer : prediction, detection and monitoring. *Nature Reviews Cancer*. 2008;8(4):268-78.

Lima-Jr MM, Oliveira MN, Granja F, Trindade AC, De Castro Santos LE, Ward LS. Lack of association of GSTT1, GSTM1, GSTO1, GSTP1 and CYP1A1 polymorphisms for susceptibility and outcome in Brazilian prostate cancer patients. *Folia Biologica (Praha)*. 2008;54(3):102-8.

Lotufo PA, Lee IM, Ajani UA, Hennekens CH, Mason JE. Cigarette smoking and risk of prostate cancer in the physicians' health study (United States). *International Journal of Cancer*. 2000;87(1):141-4.

Liu C, Zhou X, Gao F, Qi Z, Zhang Z, Guo Y. Correlation of genetic polymorphism of vascular endothelial growth factor gene with susceptibility to lung cancer. *Cancer Gene Therapy*. 2015;22(6):312-6.

Loubeau G. Impact de la surexpression de la protéine nucleophosmine (NPM1) sur la progression des cancers de la prostate. Thèse en physiologie et génétique moléculaires. Université Blaise Pascal. 2012; 332 p.

Maamri A. Données épidémiologiques sur le cancer dans le monde et au Maroc Revue bibliographique. *Annales des Sciences de la Santé*. 2015;1(1):20-9.

Machado M, Janeiro A, Miltenberger-Miltenyi G, Cortez-Pinto H. Genetic polymorphisms of proangiogenic factors seem to favor hepatocellular carcinoma development in alcoholic cirrhosis. *European Journal of Gastroenterology Hepatology*. 2014;26:438-43.

Mahajan R, Blair A, Lynch CF, Schroeder P, Hoppin JA, Sandler DP et al. Fonofos exposure and cancer incidence in the agriculture health study. *Environmental Health Perspectives*. 2006;114(12):1838-42.

- Malik SS, Batool R, Honors BS, Masood N, Yasmin A.** Risk factors for prostate cancer: A multifactorial case-control study. *Current Problems in Cancer*. 2018;42(3):337-43.
- Maheux M.** strategie analytiques par chromatographie liquide avec detection en spectrometrie de masse afin d'évaluer l'activité de neuf enzymes du cytochrome P450. Programme de maîtrise en chimie. Université Laval. 2012; 55 p.
- Mallick S, Romana M, Blanchet P, Multigner L.** *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms and the risk of prostate cancer in a Caribbean population of African descent. *Journal of urology*. 2007;69(6):1165-9.
- Mandić S, Horvat V, Marzi S, Lukić I, Galić J.** Association Study of Cytochrome P450 *IA1*2A* Polymorphism with Prostate Cancer Risk and Aggressiveness in Croatsians. *Collegium Antropologicum*. 2014;38(1):141- 6.
- Margel D.** Cancer de la prostate. *BMJ Open*. France. 2011.
- Marieb EN.** Le système génital. *Biologie humaine. Principes d'anatomie et de physiologie*. 16. Ed. renouveau pédagogique Inc;2008:569-71.
- Massard C, Fizazi K.** Tumeurs de la prostate. *La revue du praticien*. 2010;60(1):113-9.
- Martinez-Fierro ML, Garza-Veloz I, Rojas-Martinez A, Ortiz-Lopez R, Castruita-de la Rosa C, Ortiz-Castro Y et al.** Positive association between vascular endothelial growth factor (VEGF) -2578 C/A variant and prostate cancer. *Cancer Biomark*. 2013;13(4):235-41.
- Mayton AG, Jobs CC, Gallagher S.** Assessment of whole-body vibration exposures and influencing factors for quarry haul truck drivers and loader operators. *International Journal of Heavy Vehicle Systems*. 2014;21(3):241-61.
- McCarron SL, Edwards S, Evans PR, Gibbs R, Dearnaley DP, Dowe A et al.** Influence of cytokine gene polymorphisms on the development of prostate cancer. *Cancer Research*. 2002;62(12): 3369-72.
- Merabet N.** Association des polymorphismes génétiques du cytochrome P450 1A1 (CYP 1A1) et risque du cancer du sein. Thèse de Biologie animale. Université Hadj Lakhdar. 2012; 54 p.
- Merrick GS, Butler WM, Wallner KE, Galbreath RW, Lief JH.** Adamovich E. Effect of cigarette smoking on biochemical outcome after permanent prostate brachytherapy. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. 2004;58:1056–62.
- Mestres J.** Structure conservation in cytochromes P450. *Proteins*. 2005;58(3):596-609.
- Meyer RD, Mohammadi M, Rahimi N.** A single amino acid substitution in the activation loop defines the decoy characteristic of VEGFR-1/FLT-1. *Journal of Biological Chemistry*. 2006;281(2):867–75.
- Meyer MS, Penney KL, Stark JR, Schumacher FR, Sesso DH, Loda M et al.** Genetic variation in RNASEL associated with prostate cancer risk and progression. *Carcinogenesis*. 2010;31(9):1597-1603.
- Meyer U, Zangen U.** Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 1997;37:269-96.

Mikstacka R, Baer-Dubowska W, Wieczorek M, Sobiak S. Thiomethylstilbenes as inhibitors of CYP1A1, CYP1A2 and CYP1B1 activities. *Molecular Nutrition Food Research*. 2008;52 Suppl 1:S77-83.

Miller JW, Le Couter J, Strauss EC, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor a in intraocular vascular disease. *Ophthalmology*. 2013;120(1):106–14.

Mittal RD, Srivastava DS, Mandhani A, Kumar A, Mittal B. Polymorphism of GSTM1 and GSTT1 genes in prostate cancer: a study from North India. *Indian Journal of Cancer*. 2004;41(3):115–9.

Mo Z, Gao Y, Cao Y, Gao F, Jian L. An updating meta-analysis of the *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* polymorphisms and prostate cancer: a HuGe review. *Prostate*. 2009;69(6):662–88.

Mohammadi M, Ollier W, Hutchinson I. A functional association study of VEGF gene promoter polymorphisms with VEGF expression by stimulated pbm cells. *Humman Immunology*. 2003;64:S125.

Monge A. Conséquences fonctionnelles et structurales de l'association de deux mutations du récepteur des androgènes dans le cancer de la prostate. Thèse en Sciences du vivant. Université Louis Pasteur Strasbourg I. 2008; 43-62p.

Monge M. Conséquences fonctionnelles et structurales de l'association de deux mutations du récepteur des androgènes dans le cancer de la prostate. Thèse en biologie. Université Louis Pasteur. 2009; 43-62 p.

Monteiro SC, Boxall AB. Occurrence and fate of human pharmaceuticals in the environment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 2010;202:53-4.

Montironi R, Mazzucchelli R., Lopez-Beltran A, Scarpelli M, Cheng L. Prostatic intraepithelial neoplasia: its morphological and molecular diagnosis and clinical significance. *BJU International*. 2011;108(9):1394-401.

Morohashi K, Takada T, Omori K, Suzuki E, Gejyo F. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in Japanese patients with sarcoidosis. *Chest journal*. 2003;123(5):1520-6.

Mould AW, Greco SA, Cahill MM, Tonks ID, Bellomo D, Patterson C. Transgenic overexpression of vascular endothelial growth factor-b isoforms by endothelial cells potentiates postnatal vessel growth in vivo and in vitro. *Circulation research*. 2005;97(6):e60-70.

Moussard C. Biochimie du cancer. *Biologie moléculaire. Biochimie des communications cellulaires*. Ed. Boeck;2005:283-94.

Multigner L, Ndong JR, Oliva A, Blanchet P. Gynécologie Obstétrique et Fertilité. 2008;36:848-56.

Munro AW, Girvan HM, Mason AE, Dunford AJ, McLean KJ. What makes a P450 tick? *Trends in Biochemical Sciences*. 2013;38(3):140-50.

Murakami M, Iwai S, Hiratsuka S, Yamauchi M, Nakamura K, Iwakura Y et al. Signaling of vascular endothelial growth factor receptor-1 tyrosine kinase promotes rheumatoid arthritis through activation of monocytes/macrophages. *Blood*. 2006;108(6):1849-56.

Murata M, Watanabe M, Yamanaka M, Kubota Y, Ito H, Nagao M et al. Genetic polymorphisms in cytochrome P450 (CYP) 1A1, CY1A2, CYP2E1, glutathione transferases (GST) M1, GSTT1, and susceptibility to prostate cancer in the Japanese population. *Cancer Letters*. 2001;165(2):171-7.

Nadalin V, Kreiger N, Parent ME, Salmoni A, Sass-Kortsak A, Siemiatycki J et al. Prostate cancer and occupational whole-body vibration exposure. *The Annals of Occupational Hygiene*. 2012;56(8):968-74.

Namiki A, Brogi E, Kearney M, Kim EA, Wu T, Couffinhall T et al. Hypoxia induces vascular endothelial growth factor in cultured human endothelial cells. *Journal of Biological Chemistry*. 1995;270(52):31189-95.

Nasr HB, Chahed K, Bouaouina N, Chouchane L. Functional vascular endothelial growth factor -2578 C/A polymorphism in relation to nasopharyngeal carcinoma risk and tumor progression. *Clinica Chimica Acta*. 2008;395:124-9.

Naykoo NA, Afroze D, Rasool R, Shah S, Ahangar AG, Bhat IA et al. Single nucleotide polymorphisms and haplotype association and tumour expression of the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene with lung cancer patients of Kachmir. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2017;18(7):1799-804.

NCBI. Homo sapiens glutathione S-transferase theta 1 (GSTT1), transcript variant 2017 [28/10/2017]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore>.

Ndong JR, Blanchet P, Multigner L. Pesticides and prostate cancer : epidemiological data. *Bulletin du Cancer*. 2009;96(2):171-80.

Netto GJ, Eich ML, Varambally S. Prostate Cancer: An Update on Molecular Pathology with Clinical Implications. *European Urology Supplements*. 2017;16(12):253-71.

Nissen NN, Polverini PJ, Koch AE, Volin MV, Gamelli RL, DiPietro LA. Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *The American Journal of Pathology*. 1998;152(6):1445-52.

Noone AM, Howlader N, Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M et al. SEER Cancer Statistics Review (CSR) 1975-2015. National Cancer Institute. 2018.

Nowacka-Zawisza M, Forma E, Walczak M, Różański W, Bryś M, Krajewska WM. Loss of heterozygosity for chromosomal regions 15q14-21.1, 17q21.31, and 13q12.3-13.1 and its relevance for prostate cancer. *Medical Oncology*. 2015;32(11):246.

Ntais C, Polycarpo A, Ioannidis JP. Association of *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* gene polymorphisms with the risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2005;14(1):176-81.

- Nussio MR, Voelcker NH, Miners JO, Lewis BC, Sykes MJ, Shapter JG.** AFM study of the interaction of cytochrome P450 2C9 with phospholipid bilayers. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2010;163(2):182-9.
- Omura T, Sato R.** A new cytochrome in liver microsomes. *Journal of Biological Chemistry*. 1962;237:1375-6.
- Orsini N, Bellocco R, Bottai M, Pagano M, Andersson SO, Johansson JE et al.** A prospective study of lifetime physical activity and prostate cancer incidence and mortality. *British Journal of Cancer*. 2009;101(11):1932-8.
- Ou C, Zhao Y, Liu JH, Zhu B, Li PZ, Zhao HL.** Relationship between aldosterone synthase *CYP11A1* MspI gene polymorphism and prostate cancer risk. *Technology in Cancer Research & Treatment*. 2016;16(1):134.
- Oudard S, Barrascout E, Ayllon J, Medioni J, Scotte F, Beuselinck B.** Les nouveaux marqueurs génétiques et biologiques des cancers de la prostate : intérêt diagnostique, pronostique et thérapeutique. *Francophone des Laboratoires*. 2010;419:25-9.
- Parent ME, El-Zein M, Rousseau MC, Pintos J, Siemiatycki J.** Night work and risk of cancer among men. *American Journal of Epidemiology*. 2012;176(9):751-9.
- Parent ME, Desy M, Siemiatycki J.** Does exposure to agriculture chemicals increase the risk of prostate cancer among farmers? *McGill Journal of Medicine*. 2009;12(1):70-7.
- Parl F.** Glutathione S-transferase genotypes and cancer risk. *Cancer Letters*. 2005;221(2):123-9.
- Peach CJ, Mignone VW, Arruda MA, Alcobia DC, Hill SJ, Kilpatrick LE et al.** Molecular Pharmacology of VEGF-A Isoforms: Binding and Signalling at VEGFR2. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(4):1264.
- Pearson WR, Vorachek WR, Xu SJ, Berger R, Hart I, Vannais D et al.** Identification of class-mu glutathione transferase genes *GSTM1-GSTM5* on human chromosome 1p13. *American Journal of Human Genetics*. 1993;53(1):220-33.
- Peddireddy V, Badabagni SP, Gundimeda SD, Mamidipudi V, Penagaluru PR, Mundluru HP.** Association of *CYP1A1*, *GSTM1* and *GSTT1* gene polymorphisms with risk of non-small cell lung cancer in Andhra Pradesh region of South India. *European Journal of Medical Research*. 2016;21:17.
- Pedro A, Gaspar I, Mara H, Salsano S, Hill K.** Polymorphism of *CYP1A1*, *CYP2E1*, *GSTM1*, *GSTT1* and *P53* genes in Amerindians and caucasiens. *American Journal of Physical Anthropology*. 2002;119: 249-56.
- Pernar CH, Ebot EM, Wilson KM, Mucci LA.** The Epidemiology of Prostate Cancer. *Cold Spring Harbor Perspective in Medicine*. 2018;8(12):a030361.
- Peter Guengerich F, Chun YJ, Kim D, Gillam EM, Shimada T.** Cytochrome P450 1B1: a target for inhibition in anticarcinogenesis strategies. *Mutation research*. 2003;523-524:173-82.

- Pignon JC.** Mécanismes d'action des androgènes sur l'expression des récepteurs de la famille du récepteur à l'EGF dans les cellules cancéreuses prostatiques : implication dans l'évolution des tumeurs vers l'hormono-indépendance. Thèse en oncologie Moléculaire. Université de Liège. 2010; 102 p.
- Plaskon LA, Penson DF, Vaughan TL, Stanford JL.** Cigarette smoking and risk of prostate cancer in middle-aged men. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2003;12(7):604-9.
- Plouet J, Schilling J, Gospodarowicz D.** Isolation and characterization of a newly identified endothelial cell mitogen produced by att-20 cells. *The EMBO Journal*. 1989;8(12):3801-6.
- Ploussard G.** Biomarqueurs émergents dans le cancer de prostate : à propos de la β -tubuline de classe III et du score urinaire PCA3. Thèse en médecine. Université de PARIS 12. 2011; 142 p.
- Pluta RM.** 2012. Prostatitis. *The Journal of the American Medical Association*. 2012;307(5):527.
- Putzi MJ, De Marzo AM.** Prostate Pathology: Histologic and Molecular Perspectives. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 2001;15(3):407-23.
- Qin C, Chen J, Li J, Ju X, Zhang S, Cao Q et al.** Variants in angiogenesis-related genes and the risk of clear cell renal cell carcinoma. *Mutagenesis*. 2014;29(6):419-25.
- Raccor BS, Kaspera R.** Extra-hepatic isozymes from the CYP1 and CYP2 families as potential chemotherapeutic targets. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2013;13(12):1441-53.
- Ragin C, Davis-Reyes B, Tadesse H, Daniels D, Bunker CH, Jackson M et al.** Farming, reported pesticide use, and prostate cancer. *American Journal of Men's Health*. 2013;7(2):102-9.
- Rahoui J, Sbitti Y, Touil N, Laraoui A, Ibrahim A, Rhrab B et al.** The single nucleotide polymorphism+936 C/T VEGF is associated with human epidermal growth factor receptor 2 expression in Moroccan breast cancer women. *Medical Oncology*. 2014;31(12):336.
- Ramanakumar AV, Nadon L, Siemiatycki J.** Exposures in painting related occupations and risk of selected cancers : Results from a case-control study in Montreal. *American Journal of Industrial Medicine*. 2008;6(51):419- 27.
- Rao D, Yu H, Bai Y, Zheng X, Xie L.** Does night-shift work increase the risk of prostate cancer? A systematic review and meta-analysis. *Onco Targets and Therapy*. 2015;8: 2817-26.
- Rashidi WNW, Suhaili AB.** Glutathione S-Transferase: An Overview on Distribution of *GSTM1* and *GSTT1* Polymorphisms in Malaysian and Other Populations. *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences*. 2019;15(SP2):85-95.
- Ravel C, Mcelreavey K, Mandelbaum J, Siffroi JP.** Polymorphismes génétiques et infertilité masculine. *Médecine Thérapeutique / Médecine de la Reproduction*. 2007;9(4):219-29.
- Razouki A.** Journée nationale de lutte contre le cancer : le Maroc engagé à améliorer la qualité de vie des patients et à réduire la mortalité due au cancer. *Opinions et Débats*. 2015.

- Rebbeck TR.** Prostate Cancer Genetics: Variation by Race, Ethnicity, and Geography. *Seminars in Radiation Oncology*. 2017;27(1):3–10.
- Rebbeck T.** Molecular epidemiology of the human *GSTM1* and *GSTT1* in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 1997;6(9):733-43.
- Rees J, Doble A.** Diagnosis and treatment of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *Trends in Urology & Men's Health*. 2015;6:12–17.
- Rendic S, Di Carlo FJ.** Human cytochrome P450 enzymes: a status report summarizing their reactions, substrates, inducers, and inhibitors. *Drug metabolism reviews*. 1997;29(1-2):413-580.
- Rehnan AG, Atkin WS, O'Dwyer ST, Shalet SM.** The effect of cigarette smoking use and cessation on serum insulin-like growth factors. *British Journal of Cancer*. 2004;91:1525–31.
- Rehnan AG, Zwahlen M, Minder C, O'Dwyer ST, Shalet SM, Egger M.** Insulinlike growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3, and cancer risk: systematic review and meta-regression analysis. *The Lancet* 2004;363(9418):1346–53.
- Reveiller M.** Etude du ligand TRAIL et ses récepteurs dans la prostate normale et pathologique reliée au statut hormonal. Thèse en Biologie. Université Claude Bernard. 2008; 273 p.
- Rezaei M, Hashemi M, Sanaei S, Mashhadi MA, Taheri M.** Association Between Vascular Endothelial Growth Factor Gene Polymorphisms with Breast Cancer Risk in an Iranian Population. *Breast Cancer (Auckl) : Basic and Clinical Research*. 2016;10:85–91.
- Riekema M, Shariat SF, Kluth LA, Fajkovic H, Rink M, Karakiewicz PI et al.** Association of Cigarette Smoking and Smoking Cessation with Biochemical Recurrence of Prostate Cancer in Patients Treated with Radical Prostatectomy. *European Urology*. 2015;68(6):949-56.
- Robson EJ, Khaled WT, Abell K, Watson CJ.** Epithelial-to-mesenchymal transition confers resistance to apoptosis in three murine mammary epithelial cell lines. *Differentiation*. 2006;74(5):254-64.
- Roddam AW, Allen NE, Appleby P, Key TJ, Ferrucci L, Carter HB et al.** Insulin-like growth factors, their binding proteins, and prostate cancer risk: analysis of individual patient data from 12 prospective studies. *Annals of Internal Medicine*. 2008;149(7):461–71.
- Rodrigues IS, Kuasne H, Losi-Guembarovski R, Fuganti PE, Gregório EP, Kishima MO et al.** Evaluation of the influence of polymorphic variants *CYP1A1*2B*, *CYP1B1*2*, *CYP3A4*1B*, *GSTM1*0*, and *GSTT1*0* in prostate cancer. *Urologic Oncology*. 2011;29(6):654-63.
- Roehl KA, Loeb S, Antenor JAV, Corbin N, Catalona WJ.** Characteristics of Patients With Familial Versus Sporadic Prostate Cancer. *The Journal of Urology*. 2006;176(6 Pt 1):2438–42.
- Rogez B.** Le chien comme modèle d'étude pour le diagnostic précoce du cancer de la prostate par biopsies guidées par imagerie bimodale. Thèse en médecine. Université CLAUDE Bernard Lyon I. 2014; 137 p.

Roman A, Oscarson M, Alexendrie A, Seidegard J, David A, Evans P et al. Characterization of a human GST m cluster containing a duplicated GSTM1 gene. *Molecular Pharmacology*. 1997;52(6): 958-65.

Roumigué M. Le principe de risque appliqué au diagnostic du cancer localisé de la prostate. Thèse en médecine. Université Toulouse III-Paul Sabatier. 2013; 115 p.

Rota M, Scotti L, Turati F, Tramacere I, Islami F, Bellocco R et al. Alcohol consumption and prostate cancer risk: a meta-analysis of the dose-risk relation. *European Journal of Cancer Prevention*. 2012;21(4):350-9.

Ruiz de Almodovar C, Lambrechts D, Mazzone M, Carmeliet P. Role and therapeutic potential of VEGF in the nervous system. *Physiological reviews*. 2009;89(2):607-48.

Safarinejad MR, Shafiei N, Safarinejad SH. Glutathione S-transferase gene polymorphisms (GSTM1, GSTT1, GSTP1) and prostate cancer: a case-control study in Tehran, Iran. *Prostate Cancer Prostatic Diseases*. 2011;14(2):105–13.

Sakr WA, Grignon DJ. Prostate cancer: indicators of aggressiveness. *European Urology*. 1997;32 Suppl 3:15-23.

Salikhova A, Wang L, Lanahan AA, Liu M, Simons M, Leenders WP et al. Vascular endothelial growth factor and semaphorin induce neuropilin-1 endocytosis via separate pathways. *Circulation research*. 2008;103(6):e71-9.

Salmi F, H Juhadi. Étude du profil épidémiologique du cancer de la prostate dans une population marocaine. 12e Conférence francophone d'épidémiologie clinique. *Épidémiologie et de Santé Publique*. 2018;66:S149–S170

Salomon L. Le score de Gleason pour les nuls. *Progrès en Urologie*. 2014;24(1):13-5.

Salomon L, Azria D, Bastide C, Beuzeboc P, Cormier L, Cornud F et al. Les membres du CCAFU. Recommandations en Onco-Urologie 2010 : Cancer de la prostate. *Progrès en Urologie*. 2010;20(S4):S217-S252.

Samaké MS. Corrélation entre le taux de PSA et les aspects histopathologiques de la prostate. Thèse en médecine. Université de Bamako. 2013; 78 p.

Sandblom G, Varenhorst E, Rosell J, Löfman O, Carlsson P. Randomised prostate cancer screening trial : 20 year follow-up. *British Medical Journal*. 2011;97(22):109-10.

Sass Kortsak AM, Purdham JT, Kreiger N. Occupational risk factors for prostate cancer. *American Journal of Industrial Medicine*. 2007;50(8):568-76.

Satchi-Fainaro R, Duncan R, Barnes CM. Polymer therapeutics for cancer : current status and future challenges. *Advances in Polymer Science*. 2006;193(1):1-65.

Sauve JF, Lavoue J, Parent ME. Occupation, industry and the risk of prostate cancer: a case-control in Montréal, Canada. *Environmental Health*. 2016;15(1):100.

Savinainen KJ, Saramäki OR, Linja MJ, Bratt O, Tammela TLJ, Isola JJ et al. Expression and Gene Copy Number Analysis of ERBB2 Oncogene in Prostate Cancer. *The American Journal of Pathology*. 2002;160(1):339-45.

Schneider BP, Radovich M, Sledge GW, Robarge JD, Li L, Storniolo AM et al. Association of polymorphisms of angiogenesis genes with breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2008;111:157-63.

Seguy B. Fonction sexuelle et de reproduction. *Physiologie préparation au diplôme d'état d'infirmière et aux professions paramédicales 3ème édition*. Ed. Maloine. 1996;309-81.

Seisen T, Rouprêt M, Faix A, Droupy S. La prostate : une glande au carrefour uro-génital. *Progrès en Urologie*. 2012;22 Suppl 1:2-6.

Selman SH. The McNeal Prostate: A Review. *Urology*. 2011;78(6):1224–8.

Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science*. 1983;219(4587):983-5.

Shahbazi J, Lock R, Liu T. Tumor Protein 53-Induced Nuclear Protein 1 Enhances p53 Function and Represses Tumorigenesis. *Frontiers in Genetics*. 2013;4:80.

Shahbazi M, Fryer AA, Pravica V, Brogan LJ, Ramsay HM, Hutchinson IV. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with acute renal allograft rejection. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2002;13(1):260–4.

Sharma A, Gupta S, Sodhani P, Singh V, Sehgal A, Sardana S et al. Glutathione S-transferase M1 and T1 Polymorphisms, Cigarette Smoking and HPV Infection in Precancerous and Cancerous Lesions of the Uterine Cervix. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2015;16(15):6429-38.

Sharma-Wagner S, Chokkalingam AP, Malaker HS, McLaughlin JK, Hsing AW. Occupation and prostate cancer risk in Sweden. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 2000;42(5):517-25.

Shaik AP, Jamil K, Das P. *CYP1A1* Polymorphisms and Risk of Prostate Cancer. *Urology Journal*. 2009;6(2):78-86.

Shen, MM, Abate-Shen C. Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. *Genes & Development*. 2010;24(18):1967–2000.

Shibuya M. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis. A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. *Genes Cancer*. 2011;2(12):1097–105.

Shibuya M. Vascular endothelial growth factor-dependent and -independent regulation of angiogenesis. *BMB Reports*. 2008;41(4):278-86.

Shin YE, Hwang IW, Jin HJ. Association between glutathione S-transferases M1, T1 and P1 gene polymorphisms and prostate cancer in Koreans. *Genes Genomics*. 2016;38(2):235–41.

Sierra MS, Soerjomataram I, Forman D. Etiology of prostate cancer in Central and South America. *Cancer Epidemiology*. 2016;7:44:S131-S140.

Simons M, Gordon E, Claesson-Welsh L. Mechanisms and regulation of endothelial VEGF receptor signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2016;17(10):611–25.

Silig Y, Pinarbasi H, Günes S, Ayan S, Bagci H, Cetinkaya O. Polymorphisms of *CYP1A1*, *GSTM1*, *GSTT1*, and Prostate Cancer Risk in Turkish Population. *Cancer Investigation*. 2006;24(1):41–5.

Silvestre JS, Tamarat R, Ebrahimian TG, Le-Roux A, Clergue M, Emmanuel F et al. Vascular endothelial growth factor-b promotes in vivo angiogenesis. *Circulation research*. 2003;93:114-23.

Sine B, Bagayogo NA, Thiam A, Sarr A, Zakou RA, Faye ST et al. Cancers de la prostate de score de Gleason supérieur ou égal à 8: Evaluation de la survie des patients. *African Journal of Urology*. 2016;22(4):243-8.

Singier S. Patients à haut risque de cancer de la prostate : épidémiologie, facteurs de risque et dépistage. Thèse en médecine. Université de Lille 2 Henri Waremourg. 2014; 63 p.

Sivoňová M, Waczulíková I, Dobrota D, Tatiana Matáková, Jozef Hatok, Peter Račay et al. Polymorphisms of glutathione-S-transferase M1, T1, P1 and the risk of prostate cancer: a case-control study. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2009;28:32-40.

Smith GA, Fearnley GW, Tomlinson DC, Harrison MA, Ponnambalam S. The cellular response to vascular endothelial growth factors requires co-ordinated signal transduction, trafficking and proteolysis. *Bioscience Reports*. 2015;35(5):e00253.

Souiden Y, Mahdouani M, Chaieb K, Bakhrouf A, Mahdouani K. Lack of Association of *CYP1A1* Polymorphism with Prostate Cancer Susceptibility of Tunisian Men. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*. 2012;16(7):661–6.

Souiden Y, Mahdouani M, Chaieb K, Elkamel R, Mahdouani K. Polymorphisms of glutathione-S-transferase M1 and T1 and prostate cancer risk in a Tunisian population. *Cancer Epidemiology*. 2010;34(5):598–603.

Sprenger R, Schlagenhauer R, Kerb R, Bruhn C, Brockmüller J, Roots I et al. Characterization of the glutathione Stransferase *GSTT1* deletion: discrimination of all genotypes by polymerase chain reaction indicates a trimodular genotype-phenotype correlation. *Pharmacogenetics*. 2000;10(6):557-65.

Srirangam V, Rai BP, Abroaf A, Agarwal S, Tadtayev S, Foley C et al. Atypical Small Acinar Proliferation and High Grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia: Should We Be Concerned? An Observational Cohort Study with a Minimum Follow-Up of 3 Years. *Current Urology*. 2017;10:199-205.

Sritharan J, Demers PA, Harris SA, Cole DC, Kreiger N, Sass-Kortsak A et al. Natural resource-based industries and prostate cancer risk in Northeastern Ontario: a case-control study. *Occupational and Environmental Medicine*. 2016;73(8):506-11.

- Srivastava D, Mandhani A, Mittal B, Mittal RD.** Genetic polymorphism of glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTT1 and GSTP1) and susceptibility to Prostate cancer in Northern India. *BJU International*. 2005;95(1):170-3.
- Stern J.** Cytochrome P 450 polymorphism and susceptibility to cancer. Medical and workplace applications. 1998;211-26.
- Stoti N.** Cancer de prostate et dépistage « mise au point actuelle et revue de la littérature ». Thèse en médecine. Université CADI Ayyad de Marrakech. 2008; 172 p.
- Strauge RC, Spiteri MA, Ramachandran S, Fryer AA.** Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutation Research*. 2001;482(1-2): 21-6.
- Sun LJ, Sun W, Fonham ETH.** Les facteurs de risques professionnels pour le cancer agressif de la prostate de haut dans une étude des Afro-Américains et européens basée sur la population. 2013. *Cancer Prevention Research*. 2013;6(11):63.
- Systematic Literature Review Report.** The associations between food, nutrition, physical activity and the risk of prostate cancer and underlying mechanisms. 2005; 3097 p.
- Takahashi H, Shibuya M.** The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its rôle under physiological and pathological conditions. *Clinical Science (Lond)*. 2005;109(3):227-41.
- Takemura H, Itoh T, Yamamoto K, Sakakibara H, Shimoi K.** Selective inhibition of methoxyflavonoids on human CYP1B1 activity. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2010;18(17):6310-15.
- Tammela T, Zarkada G, Nurmi H, Jakobsson L, Heinolainen K, Tvorogov D et al.** VEGF-3 controls tip to stalk conversion at vessel fusion sites by reinforcing notch signalling. *Nature cell biology*. 2011;13(10):1202-13.
- Tammela T, Zarkada G, Wallgard E, Murtomäki A, Suchting S, Wirzenius M et al.** Blocking VEGFR-3 suppresses angiogenic sprouting and vascular network formation. *Nature*. 2008;454(7204):656-60.
- Tan RBW, Silberstein JL, Hellstrom WJG.** Testosterone and the Prostate. *Sexual Medicine Reviews*. 2014;2(3-4):112-20.
- Tayade C, Hilchie D, He H, Fang Y, Moons L, Carmeliet P et al.** Genetic deletion of placenta growth factor in mice alters uterine nk cells. *The Journal of immunology*. 2007;178 (7):4267-75.
- Tengue K, Kpatcha TM, Botcho G, Leloua E, Amavi AK, Sikpa K et al.** Profil épidémiologique, diagnostique, thérapeutique et évolutif du cancer de la prostate au Togo. *African Journal of Urology*. 2016;22:76-82.
- Thakur H, Gupta L, Sobti RC.** Association of GSTM1T1 genes with COPD and prostate cancer in north Indian population. *Molecular Biology Reports*. 2011;38(3):1733-9.

- Théry JC, Even C, De La Motte Rouge T, Vignot S.** Épidémiologie des cancers. Savoirs et soins infirmiers. 2016;10(15):1-7.
- Traoré B.** Intérêt du dosage du PSA dans le suivi et le traitement du cancer de la prostate dans le service d'urologie du CHU du Point « G ».Thèse médecine. Université de Bamako. 2008; 128 p.
- Treps L, Gavard J.** L'angiogenèse tumorale. *Medecine/Science*. 2015;31(11):989–95.
- Turpeinen M, Raunio H, Pelkonen O.** The functional role of CYP2B6 in human drug metabolism: substrates and inhibitors in vitro, in vivo and in silico. *Current drug metabolism*. 2006;7(7):705-14.
- Tzanakis N, Gazouli M, Rallis G, Giannopoulos G, Papaconstantinou I, Theodoropoulos G et al.** Vascular endothelial growth factor polymorphisms in gastric cancer development, prognosis, and survival. *Journal of Surgical Oncology*. 2006;94(7):624-30.
- Uchida K, Uchida S, Nitta K, Yumura W, Marumo F, Nihei H.** Glomerular endothelial cells in culture express and secrete vascular endothelial growth factor. *The American Journal of Physiology*. 1994;266(1):F81–8.
- Vaisman N, Gospodarowicz D, Neufeld G.** Characterization of the receptors for vascular endothelial growth factor. *The Journal of Biological Chemistry*. 1990;265(32):19461–6.
- Vakar-Lopez F, True LD.** Prostate Cancer: Pathology and Genetics. *Encyclopedia of Cancer* (3rd Edition). Academic Press Oxford. 2019;299–310.
- Valdés-Mora F, Clark SJ.** Prostate cancer epigenetic biomarkers: nextgeneration technologies. *Oncogene*. 2015;34(13)1609–18.
- Varela-Mato V, Yates T, Stensel DJ, Biddle SJH, Clemes SA.** Time spent sitting during and outside working hours in bus drivers: a pilot study. *Preventative Medicine Reports*. 2016;3:36-9.
- Viennois E.** Impact d'une invalidation de LXR α sur la physiologie prostatique un dialogue avec la signalisation androgénique. Thèse de Biologie. Université BLAISE Pascal. 2011; 94 p.
- Vijayalakshmi K, Vettriselvi V, Krishnan M, , Shroff S, Jayanth VR, Paul SF.** Cytochrome P 4501A1 gene variants as susceptibility marker for prostate cancer. *Cancer Biomark*. 2005;1(4-5):251- 8.
- Waltenberger J, Claesson-Welsh L, Siegbahn A, Shibuya M, Heldin C.** Different Signal-Transduction Properties of KDR and Flt1, 2 Receptors for Vascular Endothelial Growth-Factor. *Journal of Biological Chemistry*. 1994;269(43):26988–95.
- Wallis CJD, Nam RK.** Prostate cancer genetics: a review. *The electronic Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2015;26(2):79–91.
- Wang G, Zhao D, Spring DJ, DePinho RA.** Genetics and biology of prostate cancer. *Genes & Development*. 2018;32(17-18):1105–40.

Wang ZY, Li HY, Jiang Z, Zhou TB, Drummen GP. GSTM1 Gene Polymorphism is Implicated in Increased Susceptibility to, Prostate Cancer in Caucasians and Asians. *Technology in Cancer Research & Treatment*. 2016;15(6):69–78.

Wang J, Xu Y, Fu Q, Yu J, Chen Z, Liu Z et al. Association of *GSTT1* gene polymorphisms with the risk of prostate cancer: an updating meta-analysis. *Tumor Biology*. 2013;34(3):1431-40.

Wang YP, Roe B, Pearson WR. Characterization of the human class mu glutathione transferase gene cluster and the GSTM1 deletion. *Journal of Biological Chemistry*. 1998;6:3517-27.

Warnier M. Rôle du canal calcique de type T, Cav3.2 et de ses protéines partenaires dans la tumorigenèse prostatique. Thèse en Biologie. Université Lille 1. 2013; 228 p.

Wei B, Xu Z, Zhou Y, Ruan J, Cheng H, Xi B et al. Association of GSTM1 Null Allele with Prostate Cancer Risk: Evidence from 36 Case-Control Studies. *PLOS ONE*. 2012;7(10):e46982.

Werck-Reichhart D, Feyereisen R. Cytochromes P450: a success story. *Genome Biology*. 2000;1(6):1-9.

Williams PA, Cosme J, Sridhar V, Johnson EF, McRee DE. Mammalian microsomal cytochrome P450 monooxygenase: structural adaptations for membrane binding and functional diversity. *Molecular Cell*. 2000;5(1):121-31.

Wilson JD. The critical Role of androgens in prostate development. *Endocrinology Metabolism Clinics of North America*. 2011;40(3):577-90.

Wilt TJ, Thompson IM. Clinically localised prostate cancer. *British Medical Journal*. 2006;333(7578):1102-6.

Wirth N, Bohadana A, Spinosa A, Martinet Y. Respiratory diseases related to passive smoking. *Revue des Maladies Respiratoires*. 2009;26(6):667-78.

Wisard M, Leisinger HJ. La prévention du cancer de la prostate est possible. *Revue médicale suisse*. 2006;2(48):163-5.

Wong JYL, Gilson ND, Bush RA. Patterns and perceptions of physical activity and sedentary time in male transport drivers working in regional Australia. *Australian and New Zealand Journal of Public Health*. 2014;38(4):314-20.

Woolard J, Bevan HS, Harper SJ, Bates D. Molecular diversity of VEGF-A as a regulator of its biological activity. *Microcirculation*. 2009;16(7):572–92.

Xian W, Zheng H, Wu WJ. Predictive value of vascular endothelial growth factor polymorphisms on the risk of renal cell carcinomas. *Genetics Molecular Research*. 2015;14(3):7634-42.

Xu B, Feng NH, Tong N, Wang ZD, Zhang W, Wu HF et al. VEGF -460C>T polymorphism and cancer risk: a meta-analysis. *Medical Oncology*. 2010;27(4):1031-6.

Yang B, Cross DF, Ollerenshaw M, Millward BA, Demaine AG. Polymorphisms of the vascular endothelial growth factor and susceptibility to diabetic microvascular complications in patients with type 1 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and its Complications.* 2003;17(1): 1-6.

Yang W, Ahn H, Hinrichs M, Torry RJ, Torry DS. Evidence of a novel isoform of placenta growth factor (PlGF-4) expressed in human trophoblast and endothelial cells. *Journal of reproductive immunology.* 2003;60(1):53-60.

Young E, Kreiger N, Purdham J, Sass-Kortsak A. Prostate cancer and driving occupations : could whole body vibration play a role?. *International Archives of Occupational and Environmental Health.* 2009;82(5):551-6.

Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology & therapeutics.* 2013;138(1):103-41.

Zanger UM, Klein K, Saussele T, Bliedernicht J, Hofmann MH, Schwab M. Polymorphic CYP2B6: molecular mechanisms and emerging clinical significance. *Pharmacogenomics.* 2007;8(7):743-59.

Zhang G, Bai R, Zhang T, Zhang H, Wen SZ, Jiang DM. Investigation of the role of VEGF gene polymorphisms in the risk of osteosarcoma. *GMR Genetics and Molecular Research.* 2015;14(3):8283-9.

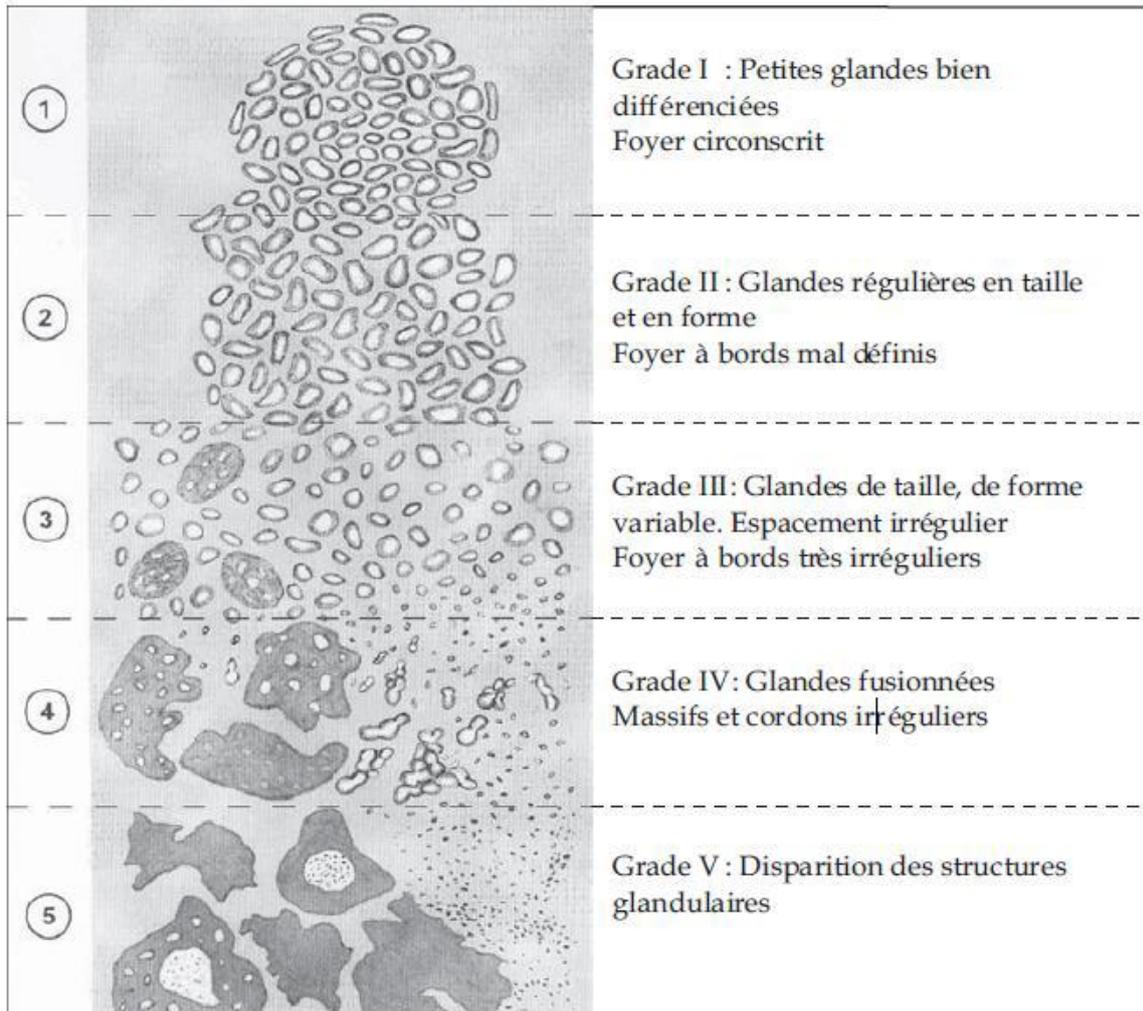
Zhang YYX, Song D, Wei J. Association between vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and bladder cancer risk. *Molecular and Clinical Oncology.* 2014;2(4):501-5.

Zhou TB, Drummen GPC, Jiang DZ, Qin YH. *GSTT1* Polymorphism and the Risk of Developing Prostate Cancer. *American Journal of Epidemiology.* 2014;180(1):1-10.

ZU K, Giovannucci E. Smoking and aggressive prostate cancer : a review of the epidemiologic evidence. *Cancer Causes Control.* 2009;20(10):1799-810.

Annexes

Annexe 1 : Grade de Gleason (Singier, 2014)



Annexe 2 : Classification TNM 2016 (Rozet *et al.*, 2018)

T0 : tumeur primitive non retrouvée

Tumeur primitive

T1 : tumeur ni palpable au toucher rectal (TR) ni visible en imagerie.

T1a : tumeur occupant moins de 5% du tissu réséqué avec un score de Gleason < 7 ou absence de grade 4 ou 5.

T1b : tumeur occupant plus de 5% du tissu réséqué ou un score de Gleason > 7 ou présence de grade 4 ou 5.

T1c : tumeur découverte sur une biopsie prostatique en raison d'une élévation de la valeur du PSA.

T2 : tumeur limitée à la prostate.

T2a : tumeur atteignant la moitié d'un lobe ou moins.

T2b : tumeur atteignant plus de la moitié d'un lobe mais sans atteindre les deux lobes.

T2c : tumeur atteignant les deux lobes.

T3 : extension au-delà de la prostate.

T3a : extension extra prostatique uni-ou bilatérale.

T3b : extension aux vésicules séminales uni-ou bilatérale.

T4 : tumeur fixée ou atteignant d'autres structures que les vésicules séminales (sphincter externe, rectum, muscle élévateur de l'anوس ou la paroi pelvienne).

N : Ganglions régionaux

Nx : ganglions régionaux non évalués.

N0 : absence de métastase ganglionnaire régionale.

N1 : atteinte ganglionnaire régionale.

N1 mi : métastase ganglionnaire $\leq 0,2$ cm (optionnel).

M : Métastases à distance

Mx : métastases à distance non évaluées.

M0 : absence de métastase à distance.

M1 : métastases à distance.

M1a : atteinte des ganglions non régionaux.

M1b : atteinte osseuse.

M1c : autres sites avec ou sans atteinte osseuse.

**Annexe 3 : Exemples de polymorphismes pouvant être liés au CaP
(Cussenot et Cancel-Tassin, 2004)**

Gène (symbole/locus)	Polymorphisme(s) associé(s)
Récepteur des androgènes (AR)/Xq11-13	Répétition CAG (< 18-23 répétitions) Répétition GGC (< 16 répétitions)
5 α -réductase de type 2 (SRD5A2)/2p23	Répétition TA (18 répétitions) A49T V89L (effet protecteur du génotype Leu/Leu)
CYP3A4 (cytochrome P450)/7q22	CYP3A4-V
17 α -hydroxylase (CYP17)/10q24-25	CYP17-A2
3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 2 (HS D3B2)/1p13	B2-C759G
3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1(HS D3B1)/1p13	B1-N367T
Aromatase (CYP19)/15q21	STRP-intron 4 (allèle 171 pb)
Récepteur α des œstrogènes (ESR)/6q25.1	Répétition GGGA- intron 1 (allèle avec un nombre de répétitions différent de 5) C10T (génotype C/C)
Catéchol-O-méthyltransférase (COMT)/22q11.21-q11.23	Génotype G/A
(CYP1A1)/15q22-24	Msp1 (génotype Val/Val) 3801T > C 2455A > G
(CYP1B1)/2p22-21 (CYP2D6)/22q13 (CYP2E1)/10q24.3-qter	Leu 432 Val (génotype Val/Val) Allèle B low activity Polymorphisme Dral (génotype DD)
Glutathion-S-transférase M1 (GSTM1)/1p13 Glutathion-S-transférase P1 (GSTP1)/11q13 Glutathion-S-transférase M3 (GSTM3)/1p13.3	Génotype -/- Génotype null homozygote
N-acétyl-transférase type 1 (NAT-1)/8p23 N-acétyl-transférase type 2 (NAT-2)/8p23	Génotype B/B

<p>NADPH quinone oxydoréductase (NQO1)/16q22</p>	<p>NAT1*10 higher activity</p> <p>NAT2 slow acetylator</p> <p>Génotype null homozygote</p>
<p>Interleukine 8 (IL8)/4q12-13</p> <p>Interleukine 10 (IL10)/1q31-32</p> <p>Insulin-like Growth Factor-Binding Protein-3(IGFBP-3)/7p13-12</p> <p>Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)/6p12</p> <p>Transforming Growth Factor-β1 (TGF-β1)/19q13.2</p> <p>Endostatine (COL18A1)/21q22.3</p>	<p>IL8-251 (effet protecteur du génotype TT)</p> <p>IL10-1082 (génotype AA)</p> <p>-202bpA/C promoteur (allèle C) (augmente le risque de développer un cancer plus agressif)</p> <p>VEGF-1154 (effet protecteur du génotype AA)-</p> <p>460bpC/T-promoteur (génotype TT)</p> <p>L10P</p> <p>D10 4N</p>
<p>Cyclin-Dependent Kinase inhibitor 1A(CDKN 1A)/6p21.2</p> <p>Cyclin-Dependent Kinase inhibitor 1B (CDKN 1B)/12p13.1-p12.</p> <p>Vitamine D receptor (VDR)/12q12-14</p> <p>Ostéocalcine (BGLAP)/1q25q31</p> <p>Protéine P53 (TP53)/17p13.1</p>	<p>20bp 3' C/T (allèle T)</p> <p>V109G (génotype VV)</p> <p>Fok1 (allèle f)</p> <p>Répétition polyA (> 18 répétitions)</p> <p>Polymorphisme TaqI (allèle T)</p> <p>Polymorphisme HindIII (effet protecteur du génotype CC)</p> <p>Effet protecteur du génotype Pro/pro au codon 72</p>

Annexe 4 : Descriptif des polymorphismes de CYP1A1 (Merabet, 2012)

Nomenclature	localisation	Point de la mutation	Changement dans la séquence protéique	Changement de la restriction	single nucleotide polymorphism (SNP) identifier
CYP1A1*2 ou CYP1A1*2A : M1	3' région non codante : en aval du site de polyadénylation	Substitution de (T) en (C) : 3801T>C	Aucun	Apparition d'un nouveau site de restriction MspI	rs4646903
CYP1A1*2C : M2	exon 7 codon 462	Substitution de (A) en (G) : 2455A>G	Substitution Isoleucine → valine : Ile462Val (<i>heme binding region</i>)	Disparition d'un site de restriction BsrDI	rs1048943
CYP1A1*3: M3	3' région non codante : en amont du site de polyadénylation.	thymine (T) to cytosine (C) 3205T>C	Aucun	Apparition d'un nouveau site de restriction MspI	---
CYP1A1*4: M4	Exon 7 codon 461	Substitution de (C) en (A) : 2453C>A	substitution threonine → asparagine: Thr461Asn (<i>heme binding region</i>)	Disparition d'un site de restriction BsaI	rs1799814
L'allèle sauvage : CYP1A1*1 ou CYP1A1*1 A.					

Annexe 5 : Questionnaire

Service : _____ Date / / _____

Identité

Nom :

Prénom :

Age :

Tél :

Adresse : _____ rural/urbain

Origine :

Poids :

Profession :

Nombre d'enfants :

Mode de vie et facteurs de risque

Tabagisme : oui/non _____ Nombre de cigarettes : _____ Nombre de paquets : _____

Depuis : _____ mois/ année _____ / Ex-fumeur depuis : _____ mois/ année

Obésité : oui/ non

Stress : problèmes familiaux : _____ oui/ non

problèmes professionnels : _____ oui/ non

Antécédents familiaux au CaP : oui/ non _____ 1^{er} degré _____ **Autres cancers** oui
2^{ème} degré _____ non

Renseignements cliniques

Présence de pathologies associées :

Age de diagnostic du CaP : _____ ans

Tumeur : localisé/ non localisé

Sans prostatectomie/ après prostatectomie Opéré le : / /

PSA : _____ ng/ ml le : / /

TR :

Score de Gleason :

Classification TNM :

Scintigraphie

N° du dossier :

Médecin traitant :

Annexe 6 : Formulaire de consentement de participation à un projet de recherche

Je soussigné, Monsieur,.....certifie avoir reçu la note d'information concernant l'étude citée ci-dessus.

Il m'a clairement été précisé que je suis entièrement libre d'accepter ou de refuser de participer à cette recherche.

Je certifie avoir compris l'objectif et les modalités de cette étude. Je donne mon accord pour la participation à cette étude.

Sur les examens à caractéristiques génétiques réalisés à partir du sang qui m'a été prélevé le

Enfin, j'ai compris que je ne recevrai aucune indemnité pour ma participation à cette étude.

Signature du patient

En l'absence d'autonomie de lecture et d'écriture de Monsieur..... la tierce personne identifiée ci-dessous, atteste avoir personnellement et fidèlement fait savoir au patient, la notice d'information et le présent formulaire de consentement et ainsi elle recueille son accord pour signer.

Tierce personne

Mme/ Mr

Signature

Signature du médecin traitant

L'investigateur : Mme Medjani Somia

Annexe 7 : Méthode d'extraction au NaCl

1. Hémolyse du sang et préparation du culot leucocytaire

Le sang fraîchement recueilli dans les tubes EDTA est vigoureusement mélangé à une solution hypotonique pour faire éclater les globules rouges.

La lyse est réalisée à +4°C durant 10 à 20 min. Ensuite, le lysat est centrifugé pendant 10 mn à 3900 tours/min. Une fois que le surnageant est éliminé, après deux lavages, on obtient un culot blanc, constitué essentiellement de leucocytes. Les étapes se sont déroulées comme suit :

1^{er} lavage :

- mettre les 10 ml de sang dans un tube Falcon de 50 ml et compléter le volume à 50 ml avec du Tris EDTA (TE) 20 : 5,
- laisser 10 min au congélateur à -18°C,
- centrifuger 10 min à 3900 tours/min,
- éliminer le surnageant en le versant prudemment dans un récipient sans décoller le culot leucocytaire contenu au fond de la paroi du tube.

2^{ème} lavage :

- ajouter au culot le TE 20 : 5 (compléter à 25 ml),
- laisser 10 min au congélateur à -18°C,
- centrifuger dans les mêmes conditions comme précédemment,
- verser délicatement le surnageant et garder le culot leucocytaire formé.

N.B : on peut s'arrêter à ce stade et mettre le culot obtenu dans un tube conique de 15 ml avec du TE 10 : 1 pour le conserver à -20°C pendant plus d'un an pour une extraction ultérieure.

2. Lyse des leucocytes, digestion du complexe nucléoprotéique et libération de l'ADN

Pour la libération de l'ADN, la dissolution des membranes des leucocytes et la digestion des protéines associées à cet ADN se déroulent comme suit :

- transvaser le culot de leucocytes dans un tube Falcon de 15 ml,
- ajouter 3 ml de tampon de lyse (NaCl 400mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, pH 8,2) en dilacérant le culot avec une pastelle stérile,
- ajouter 200 µl du détergent anionique SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) à 10% pour la lyse des leucocytes, l'inhibition des nucléases, la dénaturation des protéines et l'activation de la protéinase K,
- ajouter 100 µl de protéinase K à 10 mg/ml dans le but de digérer toutes les protéines notamment les nucléoprotéines pour libérer l'ADN nucléaire,

- mettre les tubes sous agitation (roue) à 37°C pendant une nuit car la protéinase K (10mg/ml) effectue son travail pendant 3 à 18h à 37°C,
- le lendemain, mettre les tubes dans le congélateur à -18°C afin de refroidir leurs contenus pendant 10 min.

N.B : le traitement par la protéinase K peut se faire pendant 1 à 2 h à 65 °C ou 2 à 3h à 56°C.

3. Extraction et purification de l'ADN : méthode utilisant le NaCl

Dans le but d'éliminer les protéines par précipitation sélectives, le lysat cellulaire doit être traité par une solution saline comme suit :

- ajouter 1 ml de NaCl 4M,
- agiter vigoureusement à la main,
- laisser 5 min dans le congélateur à -18°C pour accélérer la précipitation des protéines,
- centrifuger 15 min à 2500 tours/min.

3.1 Précipitation de l'ADN

La précipitation est réalisée par de l'éthanol absolu à froid conservé à -80°C et à haute concentration (2.5 le volume de l'échantillon) qui, après une légère agitation, pompe l'eau entourant la molécule d'ADN pour la rendre moins soluble ; sans eau, la molécule d'ADN peut précipiter par formation d'une pelote, visible à l'oeil nu sous forme d'une méduse (filaments). Le précipité est ensuite lavé et redissout dans le tampon TE 10 :1 (2 fois le volume de l'échantillon).

- récupérer la pelote par enroulement sur une pipette Pasteur,
- laver la pelote d'ADN 2 fois dans l'éthanol à 70% pour éliminer les sels,
- récupérer délicatement la pelote dans des tubes Eppendorf qui doivent rester ouverts durant environ 1h pour le séchage de l'ADN (par évaporation de l'éthanol)
- réhydrater l'ADN dans une solution de TE ou de l'eau bidistillée, puis conserver à -20°C.

3.2 Solubilisation de l'ADN purifié

La solubilisation est une des propriétés de l'ADN. Ce dernier, devient un sel d'acide en milieu aqueux et est ainsi soluble, pour cela, on procède comme suit :

- ajouter entre 300 à 1000µl d'eau distillée selon la grosseur de la pelote d'ADN et la concentration souhaitée,
- laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C, puis à +4°C jusqu'à dissolution complète pendant 1 à 2 jours.

Publication



AFRICAN JOURNAL OF UROLOGY

Official Journal of the
Pan African Urological Surgeons' Association (PAUSA)

Quarterly Peer-Reviewed Journal - ISSN: 1110-5704
<http://www.sciencedirect.com/science/journal/11105704/>

Editor-in-Chief:

I.M. Khalaf, Egypt
e-mail:
ikhalaf@sti.sci.eg
ismkhalaf@yahoo.com
ismkhalaf@gmail.com

Executive Editor:

E. M. Abdel-Gawad
E-mail:
eman_gawad@hotmail.com

Associate Editors:

G. Barbagli, Italy
E.O. Olapade-Olaopa, Nigeria
C. DeVries, USA
S.M Gueye, Senegal
E.O Kehinde, Kuwait
A. Mosharafa, Egypt
D. Waltregny, Belgium
A. M. Punga-Maole, Congo
Y. Nouira, Tunisia

Publisher:

Elsevier Ltd.
www.elsevier.com

Manuscript number: AFJU-D-18-00193

Title: Association of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms with risk of prostate cancer in Algerian population

Authors: Somia S Medjani, Djalila Dj Chellat-Rezgoune, Taher T Kezai, Mouhamed M Chidekh, Nouredine N Abadi, Dalila D Satta

Dear Dr Somia Medjani,

We would like to congratulate you that your original research entitled "**Association of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms with risk of prostate cancer in Algerian population**" has been accepted for publish in the African Journal of Urology. Kindly, be informed that your article has not been published yet as we are still waiting for our journal file setup by the new publisher (Springer). However, we can tell you that your article will be published online in our next volume i.e., **AFJU Volume 25**.

Best regards,

Prof. Ismail Khalaf, MD

Editor-in-Chief, African Journal of Urology

Professor of Urology, Al-Azhar University, Cairo, EGYPT

Mailing address: PO Box 2477, Elhorria, Heliopolis Cairo 11361,
EGYPT

Tel: +20 2 26710 110

Cellular: +20 122 2137100

Fax: +20 2 26709709

***CYP1A1*, *GSTM1* and *GSTT1* gene polymorphisms and risk of prostate cancer in Algerian population**

S. Medjani^{1,2,3}, Dj. Chellat-Rezgoune^{1,2}, T. Kezai³, M. Chidekh³, N. Abadi², D. Satta^{1,2}.

Abstract

Background : Prostate cancer is the most common cancer in the world and its etiology involves the interaction of genetic and environmental factors. Interindividual differences observed in the metabolism of xenobiotics may be due to polymorphisms of genes encoding the detoxification enzymes. This genetic variability seems to be associated with differences in susceptibility to certain types of cancers, including prostate cancer. Our study has been made in order to investigate a possible genetic predisposition to prostate cancer in an Algerian population, through the analysis of genetic polymorphisms of three enzymes metabolizing xenobiotics namely *Cytochrome P450 (CYP) 1A1*, *Glutathione S-transferase mu 1 (GSTM1)* and *GST theta 1 (GSTT1)*. The current case-control study included 101 prostate cancer patients and 101 healthy controls. Genotyping of *CYP1A1 T3801C* polymorphisms and *GSTM1/GSTT1-null* was made respectively by PCR-RFLP and multiplex PCR.

Results : No significantly positive associations were found for the *CYP1A1 T3801C* ($p = 0.71$, OR = 1.23 [0.56-2.72]) and *GSTM1-null* ($p = 0.26$, OR = 1.37 [0.76-2.4]) polymorphisms and prostate cancer susceptibility. However, we detect a highly significant association between *GSTT1-null* genotype ($p = 0.03$, OR = 2.03 [1.06 to 3.99], *GSTM1/GSTT1*-double null genotype ($p = 0.027$, OR = 2.6; CI [1.07- 6.5]) and prostate cancer risk. Furthermore, no statistically significant differences between the studied polymorphisms and tumor parameters of aggressiveness at diagnosis.

Conclusions: The risk of developing prostate cancer in Algeria does not appear to be associated with *CYP1A1 T3801C* genotypes and *GSTM1-null* but *GSTT1-null* and *GSTM1/GSTT1*-double null genotypes increased the risk of prostate cancer.

Keywords: Prostate cancer; Genetic polymorphism; *Cytochrome P450 1A1 T3801C*; *Glutathione-S-transferase (GST)*, *GSTM1*, *GSTT1*, PCR-RFLP, multiplex PCR

Background

Prostate cancer (PCa) is considered as a major public health problem in the world because of its increased mortality and morbidity rates. It is evaluated as a most frequently diagnosed solid neoplasm. Overall, PCa is the second major cause of cancer-related death among men (Europeans, Americans and to some extent in Africans as well) [1], [2]. In Algeria, it is the most common male cancer (10% of cancers in men) with 1645 new cases with an average incidence of 10.8/100,000 and a survival rate of only of 384 were recorded in 2014. [3]. According to Globocan 2018, PCa is the third most common cancer in men with 2,578 new cases.

In order to understand the biology, etiology and to develop new interventions of PCa, complete analysis of different risk factors along with their comparison with genetics is essential [4].

Clinical and epidemiological data suggest that the development of PCa is a multiphase process. [5], [6]. Smoking, dietary habits, lifestyle factors, environmental factors, as well as geographical/racial factors and genetics factors may be involved in PCa development. Also, modification in carcinogen metabolism genes may play a critical role in PCa development due to their activation or detoxification functions [7].

Xenobiotic metabolizing enzymes (*XME*), coded by a family of xenobiotic metabolizing genes (*XMG*), have a major role in elimination of many xenobiotics or environmental chemical compounds from the body. This mechanism of detoxification occurs in two phases [8]. In phase I, *cytochrome P450* enzymes play an important role in the metabolism of estrogen and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). They catalyze the activation of procarcinogenic PAHs and their dysfunctions can cause damage to DNA, leading to carcinogenesis [9].

The *CYP1A1* gene is located on 15q22-q24 [10], contains 7 exons and 6 introns and spans 5,810 base pairs. Eleven polymorphisms of *CYP1A1* have been described, four of which have been the most studied for their involvement in modifying the risk of carcinogenesis: *m1* (*T3801C*), *m2* (*A2455G*), *m3* (*T3205C*) and *m4* (*C2453A*) [11]. The *CYP1A1 3801T/C* (also named *MspI* polymorphism, *2A or m1), results from a replacement of thymine by a cytosine at the 3801st base pair in the 3' flanking region of the gene [11],[12].

Glutathione S-transferases (*GSTs*) involve a superfamily of multifunctional and ubiquitous phase II metabolic enzymes [13]. It catalyzes the conjugation of electrophilic substrates to soluble glutathiones to facilitate their cellular excretion. Additionally, *GSTs* are able to detoxify noxious products of the cellular metabolism, such as, reactive oxygen and nitrogen species through their glutathione peroxidase activity [14], [15]. *GSTs* constitute the major antioxidant defensive system against oxidative stress by reducing reactive oxygen species, which are generated by many toxic xenobiotics [16].

In human, these enzymes are found in cytosol, microsome and mitochondria. The superfamily of genes encoding cytosolic glutathione S-transferases consists of eight classes: α (*GSTA*), κ (*GSTK*), μ (*GSTM*), ω (*GSTO*), π (*GSTP*), ζ (*GSTS*), θ (*GSTT*), and ζ (*GSTZ*) [17]. *GSTM1* and *GSTT1* genes are situated on chromosome 1p13.3 and 22q11.23 respectively [18]. *GSTM1* preferentially detoxifies carcinogens which are found in tobacco (epoxides and hydroxylated derivatives), whereas *GSTT1* is specific for the biotransformation of many smaller toxins derived from tobacco smoke such as butadiene and ethylene oxides [19]. Homozygous deletions of the *GSTM1* and *GSTT1* genes are common and result in a complete loss of enzymatic activity. Hence individuals are at greater risk towards the development of malignancies [20], [21].

Previous studies have been reported regarding the genetic status of *GSTM1* and *GSTT1* polymorphism and prostate cancer development. But the effect of polymorphisms of these two genes on PCa is still unclear because of inconsistent results among different populations [22].

The aim of the present study was to assess the influence of *CYP1A1* and glutathione S-transferases (*GSTM1*, *GSTT1*) on the risk of PCa.

Methods

1. Subjects

The study population consisted of 101 patients with prostate cancer and 101 healthy controls. All patients were histologically diagnosed with prostate cancer; thus, all stages of this tumor development have been included. Cases were recruited from the Uro-Nephrology Hospital “the Department of Urology and Renal Transplantation,” Constantine, Algeria. The criteria for patient inclusion was a suspicious finding upon digital rectal examination (DRE) and/or elevated serum levels of PSA (>4 ng/ml) followed by a histopathologic confirmation of prostate cancer. Control subjects were volunteers, healthy men, without a family history of malignant disease. A detailed questionnaire was elaborated and used to obtain study information's.

2. Ethics Statement

Our research has been approved by the local Ethics Committee. The use of human blood sample and the protocol in this study strictly conformed to the principles expressed in the Declaration of Helsinki, and informed (written) consent was obtained from all participants.

3. Molecular analysis of *CYP1A1*, *GSTM1* and *GSTT1* gene polymorphisms

3.1 Blood collection and DNA isolation

Blood samples (10ml) were obtained from peripheral veins of patients and controls in vacutainer K3EDTA tubes. Genomic DNA isolation followed a standard procedure for NaCl extraction and ethanol precipitation. Genomic DNA samples were stored at -20°C until use.

3.2 *CYP1A1* T3801C genotyping

Detection of *CYP1A1* T3801C polymorphism was performed by polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP).

One set of forward 5'-GGCTGAGCAATCTGACCCTA-3 and reverse: 5'-TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT-3'primers was used for the amplification of a fragment of 340 pb.

DNA was amplified in a total volume of 20 µl, containing H₂O, MgCl₂ (50mM), primers (100 ng/µl), dNTP (0,2 mM), PCR buffer 10X and Taq polymerase (Taq DNA 5U/µl). For each individual, 2 µl of DNA (20 à 50 ng/µl) are mixed with 18 µl of the mixture in a PCR tube.

Following an initial denaturation step at 94°C for 4 minutes. 37 cycles of amplification were carried out, denaturation (94°C for 30 seconds), annealing (60°C for 30 seconds), and extension (72 °C for 30 seconds), with a final extension step at 72°C for 10 minutes. The amplified products were electrophoresed on a 2% agarose gel to check PCR product size. The PCR amplicons generated for *m1* (340 bp) was subjected to restriction digestion. *MspI* restriction enzyme was used to detect polymorphisms in the *CYP1A1 m1*.The reaction mixtures were incubated at 37°C for 12 h, electrophoresed on 3% agarose gel and stained with ethidium bromide for visualization.

3.3 *GSTM1* and *GSTT1* genotyping

The *GSTM1* and *GSTT1* gene deletions were analyzed simultaneously by multiplex PCR. β -globulin was used as an internal control, confirming successful PCR amplification to ensure

that the *GSTM1-null* and *GSTT1-null* were due to deletion of *GST* alleles and not due to failure of the PCR.

To detect the *GSTM1* deletion, the primers used were *GSTM1* F (5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3') and *GSTM1* R (5'-GTTGGGCTCAAATATACGGTGG-3'). For *GSTT1*, the primers used were *GSTT1* F (5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3') and *GSTT1*R (5'-TCACCGGATCATGGCCACCA-3'). For β -globulin F (5'-ACA CAA CTG TGT TCA CTA GC--3') and R (5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3').

The PCR conditions were: 4 minutes of initial denaturation at 95°C, followed by of 37 cycles of denaturation at 94°C for 1 minute, annealing at 62°C for 1 minute and extension at 72°C for 1 minute with a final extension at 72°C for 4 minutes.

The *GSTM1* fragment was 230 bp, the *GSTT1* fragment was 480 bp, and the β -globulin fragment was 110 bp in size.

4. Statistical analysis

Statistical analysis was carried out using R software version 3.2.3. Statistical significance of differences in genotype frequencies between patients and controls was estimated by the Chi-square test. Logistic regression was used to evaluate the effect of genotypes, after adjusting age and tobacco. We also performed a logistic regression analysis to determine whether the clinical stage and the pathological grade were associated with PCa risk. The odds ratio (OR) and its 95% confidence interval (CI) were used to illustrate the association, with $p < 0.05$ considered statistically significant in all tests.

Results

Relevant characteristics of cases and controls are given in *Table 1*. In our study, patients and controls were aged between 50 and 89 years, the average age of prostate cancer patients and controls was 70.66 ± 8.32 and 68 ± 9.19 , respectively. No statistically significant difference was observed between cases (63.37%) and controls (55.37%) regarding the smoking status ($p = 0.25$). Also, the majority of patients population have heigher total PSA rate and diagnosed at advanced stage. There was no significant interaction between *CYP1A1*, *GSTM1*, *GSTT1* genotypes and smoking (data not shown).

Table 1 : Characteristics of the study population.

Characteristics	Cases N (%)	Controls N (%)	OR [IC]	(P-value)
Sample size	101	101		
Age (mean years±SD)	70.66±8.32	68.96±9.19		
Smoking status				
Non-smoker	37(36.63)	45(44.45)	1.39 [0.8, 2.4]	0.25
Smoker	64(63.37)	56(55.44)		
Clinical criteria				
Total PSA Rate (ng/ml)				
PSA ≤ 10	8 (08.00)			
10< PSA < 50	29 (38.67)			
PSA ≥ 50	64 (53.33)			
mean (±SD)	74.49±33.77			
The Gleason score				
GS ≤7	37(36.63)			
GS >7	64(63.36)			
Clinical stage				
Localized	42(41.58)			
Advanced	59(58.41)			

SD : Standard Deviation, PSA : Prostate specific antigen, GS : Gleason score.

Representative *CYP1A1 T3801C* genotyping results are summarized in *Figure 1*. *Table 2* shows the distribution of allelic and genotypic frequencies for the polymorphism *CYP1A1 T3801C* between individuals with and without prostate cancer and their relation with risk of prostatic carcinogenesis.



Figure 1: 3% agarose gel illustrating the amplifications of *CYP1A1* polymorphism. DNA fragments digested with *MspI* and electrophoresis were *TT* homozygous major type which reveals the uncut amplicon of 340 pb ; *CC* homozygous minor type (mutant) should show two fragments (200 and 140 bp) while the heterozygous genotype *T/C* presents three fragments : the uncut fragment 340 bp and two restriction fragments of 200 and 140 bp.

Table 2. Statistical analysis and distribution of *CYP1A1 T3801C* genotypes and allelic frequencies for PCa patients and controls.

	Patients (%)	Controls (%)	OR/CI	P-value
<i>TT</i>	82 (81.18)	85 (84.15)		
<i>TC</i>	19 (18.81)	16 (15.84)	1,23 [0,56-2,72]	0.71
<i>CC</i>	0	0	/	/
<i>TC+CC vs TT</i>	1 (18.81)	16 (15.84)	1,18 [1,72-2,42]	0.71
<i>TT+TC vs CC</i>	101 (100)	101 (100)	/	/
<i>Allele T</i>	183 (90.59)	186 (92.07)		/
<i>Allele C</i>	38 (9.41)	32 (7.92)	1,20 [0,57-2,55]	0,72

OR : Odds ratios, CI : Confidence intervals.

A total of 101 PCa patients and 101 control subjects were included in this study. Frequencies of *CYP1A1 T3801C* polymorphism genotypes show that the wild genotype (*TT*) is the most common in both populations. Eighty-two 82 (81.18%) cases and eighty-five 85 (84.15%) of controls were (*TT*). Heterozygote genotype (*TC*) was found in nineteen 19 (18.81%) patients and sixteen 16 (15.84%) normal controls. Thus, no mutated genotype (*CC*) was identified in all genotyped individuals. These results suggest that no statistically significant association of *CYP1A1 T3801C* gene polymorphism with PCa in the tested population ($p=0.71$, OR =1.23 [0.56-2.72]).

Representative *GSTM1* and *GSTT1* genotyping results are illustrated in Figure 2. Table 3 presents genotype frequencies for the *GSTM1* and *GSTT1*.

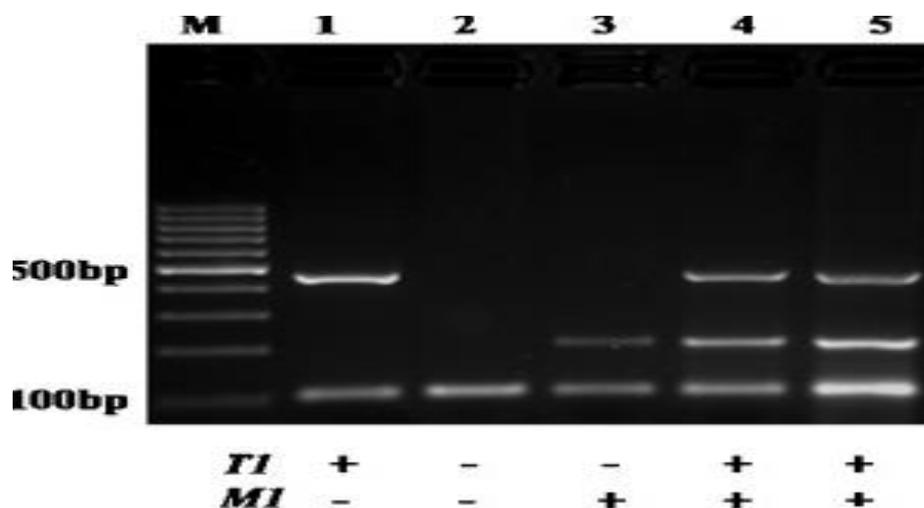


Figure 2: PCR multiplex products resolved on 3% agarose gel, stained with ethidium bromide. Amplicons of 230 bp and 480 bp indicate, respectively, the presence of *GSTM1* and *GSTT1*. A band at 110 bp, corresponding to β -globin gene.

GSTM1 and *GSTT1* genotypes distribution among all population (cases and controls), as well as the estimates of PCa risk, are summarized in Table 3.

Table 3. *GSTM1*, *GSTT1* genotypes distribution among tested patients and healthy controls and susceptibility of PCa.

	Patients	%	Controls %	OR/CI	P-value
<i>M+</i>	43 (42.57)		51(50.49)	/	/
<i>M-</i>	58 (57.42)		50 (49.50)	1.37 [0.76-2.4]	0.26
<i>T+</i>	63 (62.37)		78 (77.22)	/	/
<i>T-</i>	38 (37.62)		23 (22.77)	2.03 [1.06 -3.99]	0.03
<i>M+/T+</i>	30 (29.70)		41 (40.59)	/	/
<i>M+/T-</i>	13 (12.87)		10 (9.90)	1.76 [0.62 – 5.2]	0.33
<i>M-/T+</i>	33 (32.67)		37 (36.63)	1.21 [0.60 – 2.5]	0.61
<i>M-/T-</i>	25 (24.75)		13 (12.87)	2.6 [1.07 – 6.5]	0.027

OR : Odds ratios, CI : Confidence intervals.

GSTM1 was deleted in 50.49% of controls and 42.57% of PCa patients. No significant association was found when comparing *GSTM1* gene deletions (p =0.26, OR=1.37, CI [0.76-2.4]) with risk of PCa.

GSTT1-null genotype was observed in 37.62% of patients with PCa and 22.77% of controls subjects, which was statistically significant (p =0.03, OR=2.03, CI [1.06-3.99]).

Combined frequencies of *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms *Wild/Wild* (+/+), *Wild/Null* (+/-), *Null/Wild* (-/+), and *Null/Null* (-/-) in healthy control were 40.59, 9.90, 36.63 and 12.87%, respectively. Whereas, in PCa patients the frequencies were 29.70, 12.87, 32.67 and 24.75%, respectively. The significant association was found between *GSTM1-null/GSTT1-null* (double null) (p =0.027) (OR=2.6; CI [1.07 – 6.5]).

Tables 4.5 present the relation between the studied polymorphisms and the Gleason score and clinical stages at diagnosis of PCa.

Table 4: Correlation between *GSTM1*, *GSTT1*, *CYP1A1* genotypes and different Gleason scores.

Polymorphism	Gleason Score		OR/CI	P-value
	GS≤7 (n=37)	GS>7 (n=64)		
<i>GSTM1</i>				
<i>M+</i>	17(45.94%)	26(40.62%)	0.89 [0.69-1.15]	0.40
<i>M-</i>	20(54.05%)	38(59.38%)		
<i>GSTT1</i>				
<i>T+</i>	26(70.27%)	37(57.81%)	0.91 [0.70-1.17]	0.47
<i>T-</i>	11(29.72%)	27(42.19%)		
<i>GSTM1/GSTT1</i>				
<i>Both present</i>	13(35.14%)	17(26.57%)	0.92 [0.71-1.18]	0.52
<i>Either null</i>	17(45.94%)	29(45.31%)		
<i>Both null</i>	7(18.92%)	18(28.12%)		
<i>CYP1A1</i>				
<i>TT</i>	29(78.37%)	53(82.21%)	0.78 [0.56-1.07]	0.13
<i>TC</i>	8(21.63%)	11(17.19%)		

Table 5: Relation between *GSTM1*, *GSTT1*, *CYP1A1* genotypes and clinical stages at diagnosis of PCa.

Polymorphism	Clinical stages		OR/CI	P-value
	Localized (n=42)	Advanced (n=59)		
<i>GSTM1</i>				
<i>M+</i>	18(42.85%)	25(42.38%)	0.99 [0.85-1.16]	0.98
<i>M-</i>	24(57.15%)	34(57.62%)		
<i>GSTT1</i>				
<i>T+</i>	28(66.66%)	35(59.32%)	1.11 [0.94-1.31]	0.18
<i>T-</i>	14(33.34%)	24(40.68%)		
<i>GSTM1/GSTT1</i>				
<i>Both present</i>	15(35.71%)	15(25.42%)	1.02 [0.87-1.20]	0.75
<i>Either null</i>	17(40.48%)	29(49.15%)		
<i>Both null</i>	10(23.81%)	15(25.43%)		
<i>CYP1A1</i>				
<i>TT</i>	33(78.57%)	49(83.05%)	0.84 [0.69-1.03]	0.10
<i>TC</i>	9(21.43%)	10(16.95%)		

The logistic regression analyses presented in Table 4, 5 showed no statistically significant correlations between the *GSTM1*, *GSTT1*, *CYP1A1* genotypes and different Gleason scores and clinical stages at diagnosis of PCa.

DISCUSSION

This paper reports for the first time in Algeria the relation between the genetic polymorphism of three enzymes metabolizing xenobiotics (*CYP1A1*, *GSTM1*, *GSTT1*) and susceptibility to developing prostatic cancer. The choice of these allelic variants is justified for each variant's potential as a marker of susceptibility for different types of cancer.

A total of 202 Algerian men were recruited and the association was analyzed between the case and control subjects. This present article shows the effect of the *GSTM1*, *GSTT1* and *CYP1A1* polymorphism on PCa risk in an Algerian population.

Prostate cancer is a multifactorial disease resulting from the combined effects of multiple environmental and genetic factors. Individual differences in the susceptibility to carcinogens play an essential role in the development of sporadic cancer. Several polymorphic genes encoding enzymes involved in the biotransformation of carcinogens have been studied as possible prostate cancer risk modifiers, including the *cytochrome P450 (CYP)* genes and *GST* system.

Numerous studies have been conducted to determine the association between the *CYP1A1*, *GSTM1*, *GSTT1* polymorphisms and PCa. However, the results are conflicting due to differences in the studied populations, various genetic backgrounds, ethnic and geographic variation and different exposures to diverse environmental risk factors.

In the present study, no links were detected between PCa and *T3801C* polymorphism. Our results are consistent with previous reports: Souiden et al [23], Mandić et al [24] found that there is no significant association between *T3801C* polymorphism of *CYP1A1* and PCa in the Tunisian and Caucasian populations, respectively. In addition, the results published by Li et al [25] and Ou et al [26] revealed that no correlation between *T3801C* polymorphism of *CYP1A1* and predisposition to PCa.

Nevertheless, many studies diverge from our results: Abdel-Razzak et al [9] found a statistically significant association of the allele *CYP1A1 T3801C* with PCa in the Lebanese population and showed that individuals carrying at least one allele *CYP1A1 T3801C* are at higher risk (2.7 times higher risk to develop PCa). Similarly, Bag et al [12], Vijayalakshmi et al [27], Shaik et al [28] and He et al [29] postulated a strong involvement of *CYP1A1* polymorphism *T3801C* in PCa development. In addition, Acevedo et al [6] report that *CYP1A1 T3801C* polymorphism is an important risk factor for PCa, which increases with smoking.

The results of our study and other reports suggest that the biotransformation enzyme *CYP1A1 T3801C* is polymorphic in the prostate tissue. Also, *CYP1A1 T3801C* gene polymorphism is involved with elevated enzymatic activity and/or inductibility which can result in an accumulation of genotoxic compounds and consequently to cancerogenesis.

In the current study, *GSTM1* wild and null genotypes were found, respectively, in 42.57 and 57.42% of PCa patients. A similarity was observed in the healthy controls (50.49% wild type and 49.50 % null type, respectively). These results indicated no statistically significant association between *GSTM1-null* genotype and the increased risk of PCa. The lack of significant association of homozygous *GSTM1-null* gene in our study is consistent with reports from studies in South India, Japanese, American and Africans populations [30]. Also, these results are in agreement with the results of Mallick et al [31] and Souiden et al [32] in a Caribbean of African descent and Tunisian populations, respectively.

Conversely, our finding is not consistent with Turkish, [33] Iranian [34], Chilean [35], Japanese [36] and North Indian [37] studies, where significant association was found between the *GSTM1-null* genotype and risk of sporadic prostate cancer.

A number of studies presented in a meta-analysis of Wei et al [38] (combined results of 36 studies including 6,202 cases and 8,209 controls) and Zhong-Yang Wang et al [39] (contained

data from 6741 patients and 9053 controls) were marked an association between the *GSTM1-null* genotype and PCa risk in the overall population and Asians. These variations may be attributed to the underlying geographical and ethnic factors.

We also investigated the association of *GSTT1* and PCa. The frequency of the *GSTT1-null* genotype was higher among patients (37.62%) than the controls (22.77%), the association was statistically significant (OR=2.03, CI [1.06-3.99], p = 0.03).

In our study, there was an increased risk of PCa with the *GSTT1-null* genotype, as reported in the Tunisian and Korean populations [32], [40]. Thus, *GSTT1-null* genotypes were associated with more than three fold increased risk of PCa in Iranian men [34].

Forty-three reports represented in the meta-analysis of Yang et al [22] were recruited data from 26,393 subjects (9,934 cases and 16,459 controls). There was marked an association between the *GSTT1-null* genotype and prostate cancer risk in the overall population. However, published results of Zhou et al [41] indicate that *GSTT1-null* genotype is associated with PCa risk in Caucasians, but not in the overall population. On the contrary, other studies found no evidence of an association between *GSTT1* polymorphism for an increased risk of PCa [42], [43].

In addition, *GSTT1* deletion was not correlated with prostate cancer in Asian, Caucasian, Korean, African and American men [44]. Other more meta-analysis have given the same result [45], [46].

When the two genotypes were combined, we observed that the presence of the genotypes *GSTM1-null/GSTT1-null* (double null) were associated with an increased risk for developing PCa. Similar results have been found in Iran [34].

In this context, we can suggest that the double mutated genotype may play an important role in the susceptibility of PCa. Dual null deletion of *GSTM1* and *GSTT1* were not associated with prostate cancer in studies of African descent, Brazilian and Caucasians [47]. Another meta-analysis showed no association of these two genes in the development of prostate cancer [48]. The genotypes studied in the present work were also correlated with histopathologic parameters : Gleason scores and clinical stages at diagnosis of prostate cancer. The stratified analysis of studied polymorphisms on grade/stage of the patients did not reveal any significant association suggesting that the genotypes are not associated with the stage or aggressiveness.

Lima et al [49], Rodrigues et al [50] did not observe any association with *GST* and *CYP1A1* genotypes and parameters of aggressiveness at diagnosis.

On the other hand Safarinejad et al [34] demonstrated that *GSTM1-null* and *GSTT1-null* genotype was observed in a higher frequency in patients with a Gleason score >7.

Since the *GSTM1-null* genotype is more frequent than *GSTT1-null*, this indicates that loss of function of *GSTT1* has a more deleterious effect than *GSTM1*. In addition, *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms could cause disparities in enzyme activities, and *GSTM1-null/GSTT1-null* individuals have a complete absence of activity of these enzymes. In addition, individuals with homozygous deletions of *GSTM1* or *GSTT1* lack glutathione S-transferase and therefore may be unable to eliminate electrophilic carcinogens as efficiently, which may increase the risk of somatic mutations leading to tumor formation [51].

There was no significant association between the *GSTM1*, *GSTT1*, *CYP1A1* genotypes and the clinico-pathologic factors of prostate cancer. To better understand the role of these variants and to study their predictive value, tumor prognostic criteria should be examined, such as cancer-specific survival and overall survival.

The introduction of new molecular biomarkers such as *GSTs* and *CYPs* in the management of patients with PCa may improve their clinical results.

Our study has some limitations. First, the sample size for genetic analysis is relatively small. Therefore, further studies should be done on a larger scale for confirmation of our results and functional studies undertaken to explore the effect of *GST* and *CYP* variants.

Conclusions

This study presents the first data on the frequency of *CYP1A1 (T3801C)*, *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms in an Algerian population. We did not find significant associations between genetic polymorphisms (*CYP1A1 T3801C* genotypes and *GSTM1-null*) and PCa. However, we have underrated the significance of the effect of *GSTT1-null*, and *GSTM1/GSTT1*-double null genotypes in modulating the risk of PCa.

Abbreviations

CYP : Cytochrome P450.

DRE : digital rectal examination.

GSTA : human Glutathione S-Transferase Alpha.

GSTK : Glutathione S-Transferase Kappa.

GSTM : Glutathione S-Transferase Mu.

GSTO : Glutathione S-Transferase Omega.

GSTP : Glutathione S-Transferase Pi.

GSTS : Glutathione S-Transferase Sigma.

GSTT : Glutathione S-Transferase Theta.

GSTZ : Glutathione S-Transferase Zeta.

PCR-RFLP: polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism.

PSA : Prostate Specific Antigen.

XME: Xenobiotic metabolizing enzymes.

REFERENCES

- [1] Foley R, Hollywood D, Lawler M. Molecular pathology of prostate cancer: the key to identifying new biomarkers of disease. *Endocr Relat Cancer*. 2004 Sep; 11 (3): 477-88.
- [2] Crawford ED, Higano CS, Shore ND, Hussain M, Petrylak DP. Treating patients with metastatic castration resistant prostate cancer. *A Comprehensive Rev Available Therapies*. *J Urol*. 2015 Dec; 194(6): 1537-47.
- [3] Hamdi Cherif M, Bidoli E, Birri S. et al. Cancer estimation of incidence and survival in Algeria 2014. *Noble Research Publishers*. 2015. 3 (9) : 100 - 104.
- [4] Hoffman RM. Clinical practice. Screening for prostate cancer. *N Engl J of Med*. 2011 Nov; 365 (21): 2013–2019.
- [5] Sutcliffe S, Colditz GA. Prostate cancer : is it time to expand the research focus to early-life exposures. *Nat Rev Cancer*. 2013 Mar; 13(3): 208–518; discussion *Nat Rev Cancer*. 2013 May;13(5):376.
- [6] Acevedo C, Quiñones L, Caceres D, Huidobro C, Cabezas J, Roco A. Polimorfismo de citocromo P-450 (*CYP1A1*2A*) como factor de riesgo y pronóstico del cáncer de próstata. *Chil J Urol*. 2014; 79 (4): 14 - 25.

- [7] Gong M, Dong W, Shi Z, Xu Y, Ni W, An R. Genetic Polymorphisms of *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* with Prostate Cancer Risk: A Meta-Analysis of 57 Studies. PLoS ONE. 2012 Nov 26 ; 7(11) :1-12. e50587
- [8] Cerliani MB, Pavicic W, Gili JA, Klein G, Saba S, Richard S. Cigarette smoking, dietary habits and genetic polymorphisms in *GSTT1*, *GSTM1* and *CYP1A1* metabolic genes: A case-control study in oncohematological diseases. World J Clin Oncol. 2016 Oct 10; 7(5): 395-405.
- [9] Abdel-Razzak Z, Al Attrache H, Rammal G. Association of *CYP1A1* and *CYP2E1* gene polymorphisms with prostate cancer in a Lebanese population. Inter Res J Pub Env Health. 2015 Oct 8; 2(10): 135 - 143.
- [10] Corchero J, Pimprale S, Kimura S, Gonzalez FJ. Organization of the CYP 1A cluster on human chromosome 15 : implications for gene regulation. Pharmacogenetics. 2001 Feb; 11(1): 1-6.
- [11] Masson LF, Sharp L, Cotton SC, Little J. Cytochrome P-4501A1 gene polymorphisms and risk of breast cancer : a HuGE review. Am J Epidemiol. 2005 May 15 ; 161(10), 901-15.
- [12] Bag A, Jyala NS, Bag N. Cytochrome P450 1A1 genetic polymorphisms as cancer biomarkers. Indian J Cancer. 2015 Oct- Dec;52(4): 479 - 89.
- [13] Ali M, Ibrahim AT, Ibrahim MT, Salem AHA. Deletion Polymorphism of Glutathione S-transferases M1 and T1 genes in the Sudanese Population. Am J Med Studies. 2015; 3(1): 8-12.
- [14] Board PG, Menon D. Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology. Biochim Biophys Acta. 2013 May; 1830(5):3267-88.
- [15] Galal AM, Walker LA, Khan IA. Induction of *GST* and related events by dietary phytochemicals: Sources, chemistry, and possible contribution to chemoprevention. Curr Top Med Chem. 2015;14(24):2802-221.
- [16] Sharma A, Gupta S, Sodhani P, Singh V, Sehgal A, Sardana S, et al. Glutathione S-transferase M1 and T1 Polymorphisms, Cigarette Smoking and HPV Infection in Precancerous and Cancerous Lesions of the Uterine Cervix. Asian Pac J Cancer Perv. 2015 Dec;16(15):6429-38.
- [17] Zmorzyński S, Świdarska-Kończ G, Koczkodaj D, Filip AA. Significance of Polymorphisms and Expression of Enzyme-Encoding Genes Related to Glutathione in Hematopoietic Cancers and Solid Tumors. Biomed Res Int. 2015 Nov: 1-6.
- [18] Oakley A. Glutathione transferases: a structural perspective. Drug Metab Rev. 2011 Mar 23; 43 (2):138-51.
- [19] Peddireddy V, Badabagni SP, Gundimeda SD, Mamidipudi V, Penagaluru PR, Mundluru HP. Association of *CYP1A1*, *GSTM1* and *GSTT1* gene polymorphisms with risk of non-small cell lung cancer in Andhra Pradesh region of South India. Eur J Med Res. 2016 Apr 18; 21:17.
- [20] Economopoulos KP, Sergentanis TN, Vlahos NF. Glutathione S-transferase M1, T1, and P1 polymorphisms and ovarian cancer risk: a meta-analysis. Inter J Gynecol Cancer. 2010; 20: 732-37.

- [21] Huang W, Shi H, Hou Q, Mo Z, Xie X. *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms contribute to renal cell carcinoma risk : evidence from an updated meta-analysis. *Sci Rep*. 2015 Dec 14; 5: 17971
- [22] Yang Q, Du J, Yao X. Significant association of glutathione S-Transferase T1 null genotype with prostate cancer risk: a meta-analysis of 26,393 subjects. *PLOS One*. 2013 Jan 24; 8 (1): e53700.
- [23] Souiden Y, Mahdouani M, Chaieb K, Bakhrouf A, Mahdouani K. Lack of Association of *CYP1A1* Polymorphism with Prostate Cancer Susceptibility of Tunisian Men. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*. 2012 Feb 3; 16(7): 661 – 66.
- [24] Mandić S, Horvat V, Marcz S, Lukić I, Galić J. Association Study of Cytochrome P450 *IA1*2A* Polymorphism with Prostate Cancer Risk and Aggressiveness in Croatians. *Coll Antropol*. 2014 ; 38 (1) : 141- 46.
- [25] Li H, Xiao D, Hu L, He T. Association of *CYP1A1* polymorphisms with prostate cancer risk: an updated meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2012; 39 (12): 10273- 84.
- [26] Ou C, Zhao Y, Liu JH, Zhu B, Li PZ, Zhao HL. Relationship between aldosterone synthase *CYP1A1* MspI gene polymorphism and prostate cancer risk. *Technol in Cancer Res Treat*. 2016 Jan 1; 10.1177/1533034615625519. Retraction in: Ou C , Zhao Y, Liu JH, Zhu B, Li PZ, Zhao HL. *Technol Cancer Res Treat*. 2016 December 14; 16(1): 134.
- [27] Vijayalakshmi K, Vettriselvi V, Krishnan M, , Shroff S, Jayanth VR, Paul SF. Cytochrome P 4501A1 gene variants as susceptibility marker for prostate cancer. *Cancer Biomark*. 2005; 1(4-5): 251- 58.
- [28] Shaik AP, Jamil K, Das P. *CYP1A1* Polymorphisms and Risk of Prostate Cancer. *Urol J*. 2009 Spring; 6 (2): 78 - 86.
- [29] He XF, Wei W, Liu ZZ, Shen XL, Yang XB, Wang SL et al. Association between the *CYP1A1 T3801C* polymorphism and risk of cancer: evidence from 268 case-control studies. *Gene*. 2014 Jan 25; 534(2) : 324 - 44.
- [30] Caceres DD, Iturrieta J, Acevedo C, Huidobro C, Varela N, Quinones L et al. Relationship among metabolizing genes, smoking and alcohol used as modifier factors on prostate cancer risk: Exploring some gene-gene and gene-environment interactions. *European J Epidemiol*. 2005; 20(1):79–88.
- [31] Mallick S, Romana M, Blanchet P, Multigner L. *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms and the risk of prostate cancer in a Caribbean population of African descent. *J urol*. 2007 Jun; 69(6): 1165-69.
- [32] Souiden Y, Mahdouani M, Chaieb K, Elkamel R, Mahdouani K. Polymorphisms of glutathione-S-transferase M1 and T1 and prostate cancer risk in a Tunisian population. *Tunisia. Cancer Epidemiol*. 2010 Oct; 34(5): 598–603.
- [33] Silig Y, Pinarbasi H, Günes S, Ayan S, Bagci H, Cetinkaya O. Polymorphisms of *CYP1A1*, *GSTM1*, *GSTT1*, and Prostate Cancer Risk in Turkish Population. *Cancer Investigation*. 2006 Jun 11; 24(1):41–45.
- [34] Safarinejad MR, Shafiei N, Safarinejad SH. Glutathione S-transferase gene polymorphisms (*GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*) and prostate cancer: a case-control study in Tehran, Iran. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2011 Jun; 14(2): 105–113.

- [35] Acevedo C, Opazo JL, Huidobro C, Cabezas J, Iturrieta J, Quinones Sepulveda L. Positive correlation between single or combined genotypes of CYP1A1 and GSTM1 in relation to prostate cancer in Chilean people. *Prostate*. 2003 ; 57(1) :111-7.
- [36] Murata M, Watanabe M, Yamanaka M, Kubota Y, Ito H, Nagao M, et al. Genetic polymorphisms in cytochrome P450 (CYP) 1A1, CY1A2, CYP2E1, glutathione transferases (GST) M1, GSST1, and susceptibility to prostate cancer in the Japanese population. *Cancer Lett*. 2001 Apr 26 ;165(2):171-7.
- [37] Srivastava D, Mandhani A, Mittal B, Mittal RD. Genetic polymorphism of glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTT1 and GSTP1) and susceptibility to Prostate cancer in Northern India. *BJU Int*. 2005 Jan ; 95(1) :170-3.
- [38] Wei B, Xu Z, Zhou Y, Ruan J, Cheng H, Xi B, et al. Association of GSTM1 Null Allele with Prostate Cancer Risk: Evidence from 36 Case-Control Studies. *PLOS ONE*. 2012 Oct 10 ; 7(10): e46982.
- [39] Wang ZY, Li HY, Jiang Z, Zhou TB, Drummen GP. GSTM1 Gene Polymorphism is Implicated in Increased Susceptibility to, Prostate Cancer in Caucasians and Asians. *Technol Cancer Res Treatment*. 2016 Dec; 15 (6): 69–78.
- [40] Shin YE, Hwang IW, Jin HJ. Association between glutathione S-transferases M1, T1 and P1 gene polymorphisms and prostate cancer in Koreans. *Genes Genomics* 2016; 38(2): 235–241.
- [41] Zhou TB, Drummen GPC, Jiang DZ, Qin YH. *GSTT1* Polymorphism and the Risk of Developing Prostate Cancer. *Am J Epidemiol*. 2014 Jul 1; 180 (1): 1-10.
- [42] Kumar V, Yadav CS, Datta SK, Singh S, Ahmed RS, Goel S, et al. Association of *GSTM1* and *GSTT1* polymorphism with lipid peroxidation in benign prostate hyperplasia and prostate cancer: A pilot study. *Dis Markers*. 2011 ;30(4):163-9.
- [43] Kwon DD, Lee JW, Han DY, g Seo IY, Park SC, Jeong JH, et al. Relationship between the glutathione-S-transferase P1, M1, and T1 genotypes and prostate cancer risk in Korean subjects. *Korean J Urol*. 2011 Apr 22; 52(4): 247–52.
- [44] Cai Q, Wang Z, Zhang W, Guo X, Shang Z, Jiang N, et al. Association between glutathione S-transferases M1 and T1 gene polymorphisms and prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Tumour Biology*. 2014 Jan; 35(1):247–56.
- [45] Mo Z, Gao Y, Cao Y, Gao F, Jian L. An updating meta-analysis of the *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* polymorphisms and prostate cancer: a HuGe review. *Prostate*. 2009 May 1; 69(6): 662–88.
- [46] Wang J, Xu Y, Fu Q, Yu J, Chen Z, Liu Z, et al. Association of *GSTT1* gene polymorphisms with the risk of prostate cancer: an updating meta-analysis. *Tumor Biol*. 2013Jun; 34(3): 1431–1440.
- [47] Lavender NA, Benford ML, VanCleave TT, Brock GN, Kittles RA, Moore JH, et al. Examination of polymorphic glutathione S-transferase (*GST*) genes, tobacco smoking and prostate cancer risk among men of African descent: a case-control study. *BMC Cancer* 2009 Nov 16; 9:397.

- [48] Ntais C, Polycarpo A, Ioannidis JP. Association of *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* gene polymorphisms with the risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005 Jan; 14(1):176–181.
- [49] Lima MM Jr, Oliveira MN, Granja F, Trindade AC, De Castro Santos LE, Ward LS. Lack of association of *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTO1*, *GSTP1* and *CYP1A1* polymorphisms for susceptibility and outcome in Brazilian prostate cancer patients. *Folia Biol (Praha)* 2008;54(3):102-108.
- [50] Rodrigues IS, Kuasne H, Losi-Guembarovski R, Fuganti PE, Gregório EP, Kishima MO, et al. Evaluation of the influence of polymorphic variants *CYP1A1*2B*, *CYP1B1*2*, *CYP3A4*1B*, *GSTM1*0*, and *GSTT1*0* in prostate cancer. *Urol Oncol*. 2011 Nov-Dec ;29(6) :654-63.
- [51] Coughlin SS, Hall IJ. A review of genetic polymorphisms and prostate cancer risk. *Ann Epidemiol*. 2002 Apr;12(3):182-96.
- [52] Yang Q, Du J, Yao X. Significant association of glutathione S-Transferase T1 null genotype with prostate cancer risk: a meta-analysis of 26,393 subjects. *PLOS One*. 2013 Jan 24; 8 (1): e53700.

Résumés

Résumé

Le cancer de la prostate est actuellement le cancer le plus fréquemment diagnostiqué et représente la principale cause de décès chez l'homme. Dans ce sens, l'objectif de notre travail était d'identifier (grâce à deux études statistique et moléculaire) certains facteurs de risque et paramètres histopathologiques, ainsi que d'éventuelle implication des gènes codant pour les enzymes de détoxification (*CYP1A1*, *GSTM1* et *GSTT1*) et du gène codant pour l'angiogénèse (*VEGF*) et la survenue du cancer de la prostate après une analyse moléculaire en utilisant la technique de PCR/RFLP et la PCR multiplexe.

L'étude statistique indique d'une part, une fréquence élevée du cancer de la prostate à partir de l'âge de 60 ans avec un âge moyen de $71,66 \pm 7,99$. D'une autre part, la présence d'antécédents familiaux, le tabagisme et l'exposition professionnelle (chauffeur routier, maçon - peintre, agriculteur...) sont constatés comme étant des facteurs de risque impliqués dans la survenue de cette pathologie. Ainsi, la forme sporadique est la forme la plus fréquente dans les cancers prostatiques. En outre, la majorité des cancers de la prostate sont des adénocarcinomes non limités à la capsule prostatique (PSA >10 ng/ml ; Score de Gleason $8 \leq SG \leq 10$).

Enfin, l'analyse moléculaire des patients et des témoins pour les gènes étudiés complétée par le calcul de la *p-value* indique l'absence d'association entre la délétion du *GSTM1* et du variant T3801C du *CYP1A1* et la cancérogénèse prostatique. En revanche, la délétion du *GSTT1* et la double délétion *GSTM1/GSTT1* peuvent être dans l'apparition du cancer de la prostate dans notre population d'étude. Les résultats du variant -2578C/A du *VEGF* ont également montré une différence significative avec la susceptibilité au cancer de la prostate.

Mots clés : cancer de la prostate, facteurs de risque, polymorphisme, *CYP1A1*, T3801C, *GSTM1*, *GSTT1*, *VEGF*, -2578C/A, PCR/RFLP, PCR multiplexe.

Abstract

Prostate cancer is currently the most frequently diagnosed cancer and is the leading cause of death in men. In this sense, the objective of our work was to identify, through two statistical studies, some risk factors and histopathological parameters, as well as the possible involvement of genes encoding detoxification enzymes (*CYP1A1*, *GSTM1* and *GSTT1*) and gene encoding a factor of angiogenesis (-2587C/A of *VEGF*) and the occurrence of prostate cancer after molecular analysis using the PCR/RFLP technique and multiplex PCR.

The statistical study demonstrated an increase in the rate of prostate cancer from the age 60 years old with means age of 71.66 ± 7.99 . On the other hand, the presence of family history, smoking and occupational exposure (truck driver, builder, painter, farmer....) are recorded as risk factors implicated in this cancer. Also the sporadic form is the most common form in prostates cancers. Furthermore, the most prostate cancer are adenocarcinoma at the prostatic capsule (PSA >10 ng/ml ; Gleason Score $8 \leq GS \leq 10$).

Finally, the genetic analysis of patients and controls for the studied genes presented by the *p-value* indicates that no association between the deletion of *GSTM1* and the *CYP1A1 3801T>C* variant and prostate carcinogenesis. However, the deletion of *GSTT1* and the double deletion of *GSTM1/GSTT1* are involved in the development of prostate cancer. Thus the results of the *VEGF-2578C/A* variant show a significant difference with susceptibility to prostate cancer.

Key words : prostate cancer, risk factors, polymorphism, T3801C, *CYP1A1*, *GSTM1*, *GSTT1*, *VEGF*, -2578C/A, PCR/RFLP, multiplex PCR.

ملخص

يعتبر سرطان البروستاتا أكثر أنواع السرطان انتشارا وتشخيصا، وهو السبب الرئيسي للوفاة عند الرجال. في هذا السياق، كان الهدف من عملنا (من خلال دراستين احصائية و جزئية) هو تحديد بعض عوامل الخطر، معايير الترشيح المرضي و كذلك الآثار المحتملة لترميز جينات انزيمات ازالة السموم (CYP1A1، GSTM1، GSTT1) و كذلك مورثة تكوين الأوعية الدموية (VEGF) في حدوث سرطان البروستاتا . لهذا الغرض استخدمنا تقنية التحليل الجزيئي باستخدام PCR multiplexe ، PCR/RFLP.

تشير الدراسة الاحصائية من ناحية ، الى ارتفاع نسبة الإصابة بسرطان البروستاتا من 60 سنة مع متوسط عمر 71,66+7,99 . من ناحية أخرى فان وجود تاريخ عائلي للمرض ، التدخين و التعرض المهني (سائق الشاحنة ، بناء ، مزارع ...) يشار اليها كعوامل خطر مرتبطة بحدوث هذا النوع من السرطان و بالتالي ، فان الشكل الفردي هو الأكثر شيوعا ، بالإضافة الى ذلك فان غالبية سرطان البروستاتا هو ورم غدي لا يقتصر على غشاء البروستاتا .

أخيرا، يشير التحليل الجزيئي للمرضى والشهود الى عدم وجود ارتباط بين حذف المورثة (GSTM1) و البديل (CYP1A1 3801T/C) وسرطان البروستاتا. من ناحية أخرى ان حذف GSTT1 والحذف المزدوج GSTM1/GSTT1 مشار كان في ظهور سرطان البروستاتا. كما أظهرت نتائج البديل (VEGF -2578C/A) رابط قوي مع الاصابة بهذا السرطان. الكلمات المفتاحية: سرطان البروستاتا، عوامل الخطر، التعدد الأليلي، GSTT1، GSTM1، CYP1A1، T3801C ، multiplexe PCR، PCR/RFLP، -2578C/A، VEGF

Intitulé

Gènes de prédisposition au cancer prostatique

Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat 3^{ème} Cycle LMD en génétique moléculaire

RESUME

Le cancer de la prostate est actuellement le cancer le plus fréquemment diagnostiqué et représente la principale cause de décès chez l'homme. Dans ce sens, l'objectif de notre travail a été d'identifier (grâce à deux études statistique et moléculaire) certains facteurs de risque et paramètres histopathologiques, ainsi que d'éventuelle implication des gènes codant pour les enzymes de détoxification (*CYP1A1*, *GSTM1* et *GSTT1*) et du gène codant pour l'angiogenèse (VEGF) et la survenue du cancer de la prostate après une analyse moléculaire en utilisant la technique de PCR/RFLP et la PCR multiplexe.

L'étude statistique indique d'une part, une fréquence élevée du cancer de la prostate à partir de l'âge de 60 ans avec un âge moyen de $71,66 \pm 7,99$. D'une autre part, la présence d'antécédents familiaux, le tabagisme et l'exposition professionnelle (chauffeur routier, maçon - peintre, agriculteur..) sont constatés comme étant des facteurs de risque impliqués dans la survenue de cette pathologie. Ainsi, la forme sporadique est la forme la plus fréquente dans les cancers prostatiques. En outre, la majorité des cancers de la prostate sont des adénocarcinomes non limités à la capsule prostatique (PSA >10 ng/ml ; Score de Gleason $8 \leq SG \leq 10$).

Enfin, l'analyse moléculaire des patients et des témoins pour les gènes étudiés complétée par le calcul de la *p-value* indique l'absence d'association entre la délétion du *GSTM1* et du variant T3801C du *CYP1A1* et la cancérogénèse prostatique. En revanche, la délétion du *GSTT1* et la double délétion *GSTM1/GSTT1* sont impliquées dans l'apparition du cancer de la prostate dans notre population d'étude. Les résultats du variant *VEGF -2578C/A* ont également montré une différence significative avec la susceptibilité au cancer de la prostate.

Mots clés : cancer de la prostate, facteurs de risque, polymorphisme, *CYP1A1*, T3801C, *GSTM1*, *GSTT1*, *VEGF*, -2578C/A, PCR/RFLP, PCR multiplexe.

Laboratoire de recherche :

laboratoire de biologie et de génétique moléculaire du CHU Ibn Badis Constantine.

laboratoire de biologie moléculaire de la faculté sciences de la nature et de la vie de l'université frère Mentouri Constantine 1.